

Aus dem Institut für Klinische Pharmakologie  
der Freien Universität Berlin im Klinikum Steglitz  
Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. med. H. Kewitz

**GEWEBEVERTEILUNG UND AUSSCHIEDUNG  
VON DIGOXIN  
BEIM BEAGLE-HUND**

INAUGURAL-DISSERTATION  
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde  
an den Medizinischen Fachbereichen  
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
Joachim Reiche  
aus Baalberge/Kr. Bernburg

1903



Aus dem Institut für Klinische Pharmakologie  
der Freien Universität Berlin im Klinikum Steglitz  
Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. med. H. Kewitz

GEWEBEVERTEILUNG UND AUSSCHIEDUNG VON  
DIGOXIN  
BEIM BEAGLE-HUND

INAUGURAL-DISSERTATION  
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde  
an den Medizinischen Fachbereichen  
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
Joachim Reiche  
aus Baalberge/Kr. Bernburg

Referent: Professor Dr. med. N. Rietbrock

Korreferent: Professor Dr. E. Oberdisse

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche  
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 13. 07. 1983

meiner Frau Christa



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41546605\\_0041](https://archive.org/details/IA41546605_0041)

## INHALTSVERZEICHNIS

|                                                                         | Seite |
|-------------------------------------------------------------------------|-------|
| 1. EINLEITUNG                                                           | 6     |
| 1.1 Chemische Struktur von Digoxin                                      | 6     |
| 1.2 Methoden zur Bestimmung von Digoxin<br>in biologischem Material     | 7     |
| 1.3 Problematik der Glykosidtherapie                                    | 8     |
| 1.4 Pharmakologische Aspekte der<br>Glykosidtherapie                    | 10    |
| 2. FRAGESTELLUNG                                                        | 12    |
| 3. METHODIK                                                             | 14    |
| 3.1 Substanzen                                                          | 14    |
| 3.2 Versuchstiere und Versuchsablauf                                    | 15    |
| 3.3 Gewebeentnahmen                                                     | 18    |
| 3.4 Gehirnpräparationen                                                 | 19    |
| 3.5 Ausscheidung von Digoxin                                            | 20    |
| 3.6 Analytische Verfahren                                               | 20    |
| 3.6.1 Dosisbestimmung                                                   | 20    |
| 3.6.2 Aufarbeitung des Plasmas                                          | 21    |
| 3.6.3 Aufarbeitung des Gewebes                                          | 22    |
| 3.6.4 Aufarbeitung des Urins                                            | 24    |
| 3.6.5 Aufarbeitung des Kotes                                            | 26    |
| 3.7 Dünnschichtchromatographie                                          | 28    |
| 3.8 Messung der Radioaktivität                                          | 29    |
| 3.9 Berechnung der Gewebekonzentration und<br>statistische Berechnungen | 29    |

|                                                                                | Seite |
|--------------------------------------------------------------------------------|-------|
| 4. ERGEBNISSE                                                                  | 31    |
| 4.1 Digoxinplasmakonzentration während der Aufsättigung                        | 31    |
| 4.2 Verhältnis der einzelnen Organgewichte zum Gesamtgewicht des Beagle-Hundes | 34    |
| 4.3 Organ- und Gewebekonzentration von Digoxin nach einmaliger Applikation     | 35    |
| 4.4 Organ- und Gewebekonzentration von Digoxin nach zehnmaliger Applikation    | 38    |
| 4.5 Kumulation von Digoxin                                                     | 43    |
| 4.6 Gewebe-Plasmaquotient                                                      | 47    |
| 4.7 Abfall des Digoxinspiegels in Plasma und Gewebe                            | 49    |
| 4.8 Renale und fäkale Ausscheidung der Gesamtradioaktivität                    | 57    |
| 4.9 Metabolite von Digoxin in Plasma, Geweben, Urin und Faeces                 | 60    |
| 5. DISKUSSION                                                                  | 69    |
| 5.1 Plasmaspiegel in Bezug zu pharmakokinetischen Aspekten von Digoxin         | 69    |
| 5.2 Digoxinkonzentration im Gehirn                                             | 72    |
| 5.3 Digoxinkonzentration im Herzen und anderen Organen                         | 73    |
| 5.4 Metabolismus und Elimination von Digoxin                                   | 78    |
| 5.5 Verteilung von Digoxin im Körper des Menschen und des Versuchstieres       | 82    |
| 5.6 Glykosidkumulation und ihre klinische Bedeutung                            | 85    |

Seite

6. ZUSAMMENFASSUNG

92

7. LITERATURVERZEICHNIS

95

LEBENSLAUF

127

DANKSAGUNG

129

## 1. EINLEITUNG

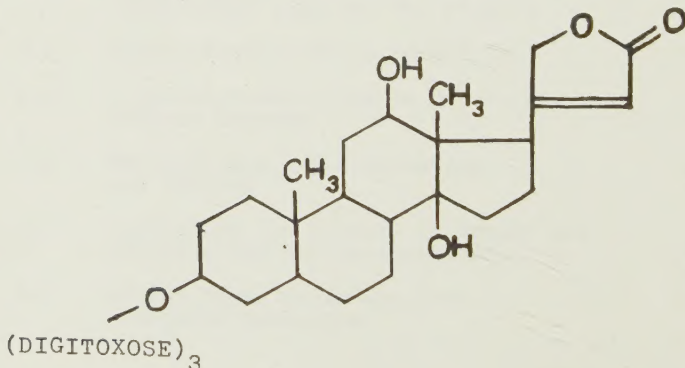
### 1.1 Chemische Struktur von Digoxin

Nachdem es SMITH 1930 erstmals gelang, Digoxin zu isolieren, ist es zu einem der gebräuchlichsten Glykoside in der Therapie der Herzinsuffizienz geworden.

Allen Glykosiden gemeinsam ist das Cyclopentanoperhydrophenathrengerüst in charakteristischer sterischer Anordnung, die sie von anderen, das Steroidskelett enthaltenden Substanzen, unterscheidet:

AB in cis-, BC in trans- und CD in cis-förmiger Ringverknüpfung; an C<sub>17</sub> befindet sich ein fünfgliedriger, ungesättigter Laktamring in  $\beta$ -Stellung als funktionelle Gruppe. Als Hilfsgruppe fungieren  $\beta$ -glykosidisch verknüpfte Digitoxosen, die nur bei den Herzglykosiden zu finden sind.

Digoxin besitzt vier freie Hydroxylgruppen im Zuckeranteil sowie an C<sub>12</sub> und C<sub>14</sub> jeweils ein Hydroxylgruppe.



## 1.2 Methoden zur Bestimmung von Digoxin im biologischen Material

War man fast 200 Jahre lang bei der Glykosidtherapie auf klinische Beobachtungen angewiesen, so bedeutete die Einführung der Radioisotopentechnik einen entscheidenden Fortschritt in der Digitalisforschung. SJOERDESMA und OKITA führten als erste Untersuchungen mit Hilfe von  $C_{14}$ -markiertem Digitoxin durch. Durch ihr Verfahren konnten noch 0,02 ng Glykosid erfaßt werden. Digitalis purpurea Pflanzen wurden in  $C_{14}$ -markierter  $CO_2$ -Atmosphäre aufgezogen. Bei diesem Verfahren erhielt man jedoch bei außerordentlich großem Herstellungsaufwand nur eine geringe spezifische Aktivität des Glykosides (0,26 bis 0,54  $\mu$  Ci pro mg).

Erst die Herstellung höher markierter Verbindungen mit Tritium nach dem Verfahren von WILZBACH machte genauere Analysen des Stoffwechsels und der Verteilung von Herzglykosiden möglich. Hierbei wird das Glykosid mit trägerfreiem Tritiumgas inkubiert. Dabei erfolgt, durch die Strahlungsenergie induziert, ein direkter Austausch von Wasserstoff und Tritium. Für Stoffwechseluntersuchungen ist dieses Verfahren weniger geeignet, da sich die Radioaktivität nicht nur auf die Wasserstoffatome des Steroidgerüsts beschränkt, sondern auch der Zuckeranteil radioaktiv markiert wird. Nach RABITZSCH (1959) können unter der hohen Strahlenbelastung bis zu 55 % hydrierte Verunreinigungen entstehen. Die Untersuchungen dieser Arbeit wurden deshalb mit 12  $\alpha$ - $^3H$ -Digoxin vorgenommen. Diese Substanz wurde nach dem von WARTBURG et al. (1965) beschriebenen Verfahren hergestellt. Acetyldigoxin wird mit Chromtrioxid zu 12-Dehydro-acetyldigoxin oxidiert. Nach Reduktion der Carbonylgruppe mit  $NaB^3H_4$  erhält man unter Abspaltung des Acetyl-Restes 12  $\alpha$ - $^3H$ -Digoxin.

Bei diesem Verfahren erhält man ohne Verunreinigungen Markierungen mit hoher spezifischer Radioaktivität in spezifischer Position.

### 1.3 Problematik der Glykosidtherapie

Durch die obengenannte Entwicklung wurde es möglich, neue Erkenntnisse über die Pharmakokinetik der Herzglykoside zu gewinnen und damit Erklärungen für die Wirkungen und Nebenwirkungen von Digitalisglykosiden zu finden.

Klinische Befunde zeigten, daß die Wirkung und besonders die Nebenwirkungen von Digoxin länger anhielten, als es der Elimination entsprechen dürfte. Über einen besonders eindrucksvollen Fall einer Digitalisintoxikation berichten CHURCH und MARRIOTT (1959): Ein 59jähriger Mann mit schwerer dekompensierter Herzinsuffizienz bei Aorteninsuffizienz erhielt über 14 Tage 1,0 mg Digoxin per os, dann 1,5 mg per os für weitere 9 Tage. Als neben Appetitlosigkeit, Herzklopfen und Sehschwäche Extrasystolen und ein AV-Block 1. Grades auftraten, wurde die Digitalismedikation abgesetzt. Einen Tag später kam es zu Paranoia und Nahrungsverweigerung. Die EKG-Veränderungen verschwanden 4 Tage nach Digitalispause; jedoch völliges psychisches Normalverhalten stellte sich erst drei Wochen nach Absetzen der Digitalismedikation ein.

Kennzeichnend für die Behandlung der Herzinsuffizienz mit Glykosiden ist die geringe therapeutische Breite. Die optimale therapeutische Dosis beträgt 50 % der toxischen Dosis. So ist es verständlich, daß die Herzglykoside eine hohe Nebenwirkungsquote haben.

Bei den Nebenwirkungen unterscheiden wir dosisunabhängige wie Gynäkomastie, Störungen der Blutgerinnung und Allergie sowie die bei Überdosierung auftretenden Nebenwirkungen der Intoxikation. Bei 15 bis 20 % aller digitalisierten Patienten muß mit Intoxikationssymptomen gerechnet werden. Wie wichtig deren Kenntnis ist, belegen Untersuchungen von FISCH. Bei Auftreten von Intoxikationssymptomen sind bereits 50 % der letalen Dosis des Glykosides im Organismus aufgenommen. Daher erklärt sich auch die hohe Letalität, die bei intoxikierten Patienten bis zu 22 % beträgt und gerade bei Patienten mit schweren Herzerkrankungen deutlich erhöht ist.

Schon WITHERING beobachtete nach Digitalisgabe sowohl kardiale als auch extrakardiale Intoxikationssymptome. Obwohl sich die kardialen Glykosidnebenwirkungen, wie Herzfrequenz- und Herzrhythmusstörungen, elektrokardiographisch verifizieren lassen, treten bei der Beurteilung ihrer Häufigkeit erhebliche Schwankungen auf, da sie für die Digitalisintoxikation keine pathognomonische Bedeutung haben und von den Auswirkungen der zugrundeliegenden Herzerkrankungen abgegrenzt werden müssen.

Ungleich schwieriger gestaltet sich die Beurteilung der subjektiven extrakardialen Symptome einer Digitalisintoxikation. Fast alle diese Symptome, wie gastrointestinale Störungen, neurologische Störungen, psychische Veränderungen und Störungen der Sehfunktion haben gemeinsam, daß sie gerade bei den digitalisbedürftigen älteren Menschen auch ohne Glykosidmedikation gehäuft auftreten. Erschwerend kommt hierbei noch hinzu, daß Symptome wie Müdigkeit, Übelkeit und Erbrechen auch durch eine digitalisbedürftige Herzinsuffizienz bedingt sein können. Dementsprechend divergieren die Angaben über die Häufigkeit extrakardialer Symptome einer Digitalisintoxikation. Zur

klinischen Beurteilung der Symptome einer Digitalisintoxikation sind deshalb auch pharmakokinetische Kenntnisse über die Glykoside notwendig.

#### 1.4 Pharmakokinetische Aspekte der Glykosidtherapie

Die Pharmakokinetik ist die auf physiologischen Verteilungsmechanismen basierende Lehre von der quantitativen Reaktion zwischen Pharmakon und Organismus. Sie beschreibt den zeitlichen Ablauf der Verteilung des ursprünglichen Wirkstoffes und seiner Derivate im unversehrten Organismus, so die Bioverfügbarkeit, die Konzentration in Geweben, die Metabolisierung und die Exkretion eines Wirkstoffes und seiner Metabolite.

Pharmakokinetische Studien über die Glykoside befassen sich hauptsächlich mit Fragen der Bioverfügbarkeit, der Metabolisierung und der Exkretion (JAHRMÄRKER und Mitarbeiter, 1975; WAGNER, 1975; RIETBROCK und Mitarbeiter, 1977; BODEM und DENGLER, 1978; LARBIG und Mitarbeiter, 1978; KREBS, 1980).

Systematische Verteilungsstudien gab es bisher nur nach einmaliger Glykosidapplikation (DOHERTY und Mitarbeiter, 1967; MARCUS und Mitarbeiter, 1969; ZELLER und Mitarbeiter, 1972; DEUTSCHER und Mitarbeiter, 1972; ROESCH und Mitarbeiter, 1973; SCHAUHANN und KOCH, 1974; BRUTHE, 1975).

Der allgemeinen Forderung für Verteilungsstudien, daß sie im Stadium des Verteilungsgleichgewichtes, im "steady state", zu erfolgen haben, wurde dabei oft aus methodischen Gründen nicht nachgekommen. Da es sich bei der

Glykosidtherapie jedoch hauptsächlich um eine Dauertherapie handelt, konnten sich die Fragen wie zum Beispiel nach der Kumulation nicht beantworten lassen. Nach AUGSBERGER (1951) erfolgt die Elimination der Glykoside nach dem Exponentialgesetz. Auch wenn die Glykosidmedikation in regelmäßigen zeitlichen Abständen erfolgt, hat dieses Gesetz Gültigkeit. Danach steigt die Glykosidmenge nach jeder Medikation solange an, bis ein endlicher Grenzwert erreicht wird, der sogenannte Kumulationsgrenzwert. Nun entspricht die eliminierte Menge der dem Körper zugeführten Dosis.

Aus der Problematik des ungeklärten Kumulationsverhaltens von Digoxin und der damit verbundenen Intoxikation ergab sich die Fragestellung der vorliegenden Arbeit.

## 2. FRAGESTELLUNG

1. Wie verteilt sich Digoxin in den Organen des Beagle-Hundes? Erfolgt in den einzelnen Geweben eine Anreicherung? Hierzu wurden Untersuchungen nach einmaliger und zehnmaliger Digoxingabe vorgenommen.
2. Bildet der Körper für Digoxin ein einheitliches Kompartiment, oder müssen im Organismus verschiedene Kompartimente angenommen werden? Zu dieser Frage wurden die Digoxinkonzentrationen im Plasma und in den einzelnen Geweben nach ein- und zehnmaliger Gabe bestimmt und zueinander in Beziehung gesetzt.
3. Finden sich Anhaltspunkte für eine unterschiedliche Eliminationsgeschwindigkeit von Digoxin aus den einzelnen Geweben und damit eine Erklärung für die Persistenz der zentralen Glykosidintoxikationszeichen nach Absetzen der Medikation? Zur Klärung dieser Frage dienten die Gewebe-, Plasma-, sowie Urin- und Faecesuntersuchungen 24 bis 144 Stunden nach Absetzen der Glykosidmedikation.

Hunde schienen nach Untersuchungen von DOHERTY und Mitarbeitern (1966), MARCUS und Mitarbeitern (1966) sowie DEUTSCHER und Mitarbeiter (1972) besonders zur Klärung dieser Frage geeignet, da nach ihren Untersuchungen bei dieser Tierart Verteilung und Metabolismus von Digoxin ähnlich wie beim Menschen seien; DEUTSCHER und Mitarbeiter (1972) fanden beim Hund zudem eine deutliche Beziehung zwischen Digoxin-Plasmaspiegel und kardialer Wirkung. Ebenso wurden beim Hund Digitalisintoxikationszeichen, wie Erbrechen, Appetitlosigkeit und Müdigkeit, beobachtet. Mit dem Beagle-Hund stand ein einheitliches

Kollektiv zur Verfügung mit gleicher Abstammung sowie gleichen Lebensbedingungen und -gewohnheiten; auch Alter und Gewicht waren ähnlich.

### 3. METHODIK

#### 3.1 Substanzen

Zu den Untersuchungen wurde  $12\text{-H}^3$ -Digoxin verwendet mit der spezifischen Aktivität von  $750 - 780\text{ }\mu\text{Ci/mg}$ . Zur Bestimmung der radiochemischen Reinheit der verwendeten Substanzen wurden gleiche Volumina der Originallösungen und der  $1 : 100$  verdünnten Lösungen verwendet. Nach Auftragen der Radioaktivität auf Kieselgelplatten und Vierfachentwicklung mit Chloroform/Aceton  $1 : 1$  als Laufmittel, wurde die Kieselgelmatrix von den einzelnen Bahnen  $1/2\text{-cm}$ -weise abgekratzt und durch 24stündige Inkubation mit  $1\text{ ml H}_2\text{O}$  bei Zimmertemperatur aufgelöst. Die Radioaktivität wurde nach Zusatz von  $15\text{ ml Instagel}^{\text{R}}$  im Flüssigkeits-Szintillationszähler bestimmt.

Die Radioaktivität auf der Kieselgelplatte in Höhe des als Referenzsubstanz simultan entwickelten, nicht markierten Digoxins betrug  $96 - 98\%$  der insgesamt aufgetragenen Radioaktivität.

Die Prozentuale Verunreinigung wurde vor jedem Versuchsansatz neu geprüft, und die Substanzen, wenn notwendig, durch Auftagen und Entwickeln auf Kieselgelplatten sowie anschließend Abkratzen der Kieselgelmatrix in Höhe der Referenzsubstanz gereinigt. Als nicht markierte Referenzsubstanzen standen kristallines, gereinigtes Digoxin, Digoxingenin-bis-digitoxosid, Digoxingenin-mono-digitoxosid, Digoxingenin und 3-Epi-Digoxingenin zur Verfügung.<sup>1)</sup>

1) Diese Substanzen wurden uns freundlicherweise von den Firmen Beiersdorf, Hamburg, und New England Nuclear, Boston, zur Verfügung gestellt.

### 3.2 Versuchstiere und Versuchsablauf

Für die Untersuchungen standen 11 gesunde Beagle-Hunde derselben Abstammung zur Verfügung. Die Tiere sowohl männlichen als auch weiblichen Geschlechts waren sieben bis zwölf Monate alt und wogen bei Versuchsbeginn zwischen 15,2 und 21,5 kg. Während der Versuche wurden die Hunde von Tierpflegern des Bundesgesundheitsamtes betreut und tierärztlich überwacht. Die Tiere erhielten Dosenfutter der Firma Pal und Wasser ad libitum. Während der Versuche lebten die Hunde in einem überdachten Stall des BGA und konnten sich täglich ca. 5 Stunden am Tag in einem Freiluftzwinger bewegen. Davon ausgenommen waren 2 weibliche Hunde, die während der Versuche in einem Stoffwechselkäfig lebten, um eine getrennte Gewinnung von Kot und Urin zu gewährleisten. Alter, Geschlecht, Gewicht, tägliche Digoxindosis sowie Anzahl der Applikationen und Zeitraum von der letzten Glykosidgabe bis zur Tötung der Tiere sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Als tägliche Erhaltungsdosis wurde 0,0125 mg/kg Digoxin gewählt. In Vorversuchen hatte sich gezeigt, daß nach täglicher Gabe der von Henderson und Stratton (1963) angegebenen Erhaltungsdosis von 0,025 mg/kg die Hunde nach 4 - 6 Tagen deutliche Zeichen einer Digitalisintoxikation mit Müdigkeit, Appetitlosigkeit, Erbrechen und Diarrhoen sowie Gewichtsverlust von 2 - 3 kg aufwiesen. Die Digitalisspiegel lagen mit 2,5 - 3 ng/ml ebenfalls im toxischen Bereich.

Venöse Blutentnahmen erfolgten jeweils während der Auf-sättigung 24 Stunden nach der letzten Digoxingabe sowie 24, 48, 72, 96, 120 und 144 Stunden nach Absetzen der zehntägigen Applikation. Aus der vena cephalica ante-brachii der Vorderpfote wurden 5 ml Blut entnommen und in

mit Heparin beschichtete Schliffgläser gegeben. In die vena cephalica antebrachii der anderen Vorderpfote wurden anschließend 0,0125 mg tritiummarkiertes Digoxin pro Kilogramm Körpergewicht injiziert.

Die Injektionen und Blutentnahmen erfolgten jeweils um 9.00 Uhr morgens in 24stündigem Abstand. Zwei Hunde wurden 24 Stunden nach einmaliger Gabe von Digoxin getötet, die anderen Hunde - siehe Tabelle 1 - 24, 48, 72, 96, 120 und 144 Stunden nach 10maliger Digoxingabe. Die Tötung der mit Digoxin behandelten Tiere erfolgte mit 50 mg/kg Pentobarbital (Nembutal<sup>R</sup>).

TABELLE NR. 1

| Hunde-Nr. | Geschlecht | Alter<br>(Mon.) | Gewicht<br>(kg) | Tägl. Digoxin-<br>dosis<br>(mg) | Anzahl der<br>Applikationen | Zeitpunkt der<br>Tötung n.d. letz-<br>ten Dosis (h) | Glykosid im<br>Plasma<br>(ng/ml)* |
|-----------|------------|-----------------|-----------------|---------------------------------|-----------------------------|-----------------------------------------------------|-----------------------------------|
| 1         | weibl.     | 9               | 21,5            | 0,2608                          | 1                           | 24                                                  | 0,37                              |
| 2         | weibl.     | 9               | 15,4            | 0,1925                          | 1                           | 24                                                  | 0,33                              |
| 3         | weibl.     | 9               | 15,5            | 0,1938                          | 10                          | 24                                                  | 1,14                              |
| 4         | weibl.     | 12              | 17,0            | 0,2125                          | 10                          | 24                                                  | 1,18                              |
| 5         | weibl.     | 9 1/2           | 15,2            | 0,1900                          | 10                          | 48                                                  | 0,56                              |
| 6         | weibl.     | 7               | 16,3            | 0,2038                          | 10                          | 48                                                  | 0,42                              |
| 7         | weibl.     | 9 1/2           | 15,3            | 0,1913                          | 10                          | 72                                                  | 0,35                              |
| 8         | männl.     | 12              | 19,7            | 0,2463                          | 10                          | 96                                                  | -                                 |
| 9         | weibl.     | 7               | 15,6            | 0,1950                          | 10                          | 96                                                  | -                                 |
| 10        | männl.     | 12              | 18,3            | 0,2288                          | 10                          | 120                                                 | -                                 |
| 11        | männl.     | 12              | 18,0            | 0,2250                          | 10                          | 144                                                 | -                                 |

\* zum Zeitpunkt der Tötung

### 3.3 Gewebeentnahmen

Nach Eintritt des Todes wurde mit einer Thorakotomie im 4. ICR links das Herz unter Ablösung der Gefäße in toto entnommen, daneben Proben aus der rechten und linken Lunge und ein Streifen des Zwerchfells.

Mit einem Schnitt vom Processus sciphoideus bis zur Symphyse des Os pubis wurde der Bauchraum geöffnet und folgende Organe entnommen:

Gallenblase und Harnblase samt Inhalt, beide Nieren mit perirenalem Fettgewebe und Nebennieren. Bei männlichen Tieren wurden Hoden und Nebenhoden, bei weiblichen Tieren Uterus mit beiden Eileitern und Ovarien entnommen.

Aus folgenden Organen des Bauchraumes wurden Proben entnommen:

Leber, Milz Pankreas, Gekröse, Magen, und nach Ausstreichen und Abbinden des Darminhaltes Proben aus Dünndarm und Dickdarm.

Ferner wurden Gewebeproben aus Ober- und Unterschenkeln des Hinterlaufes und des Vorderlaufes sowie des Kopfmuskels entnommen.

Bei der Entnahme wurden unspezifische Bestandteile, wie anhängendes Fett, Bindegewebe, Blutgerinsel und Gefäße, sorgfältig entfernt und die Gewebe bis zur weiteren Aufarbeitung auf Eis gekühlt.

Vom Herzen wurden jeweils Proben beider Vorhöfe und Kammern abpräpariert und die Nieren in Rinden- und Markanteil getrennt. Das untersuchte Fett stammte aus dem Bauchraum. Ferner wurden Proben vom subcutanen und perirenalen Fett untersucht.

Schädeldach und HWS wurden von Haut und Muskeln freipräpariert, die Schädelkalotte und die HWS mit einer Elektrosäge eröffnet und das Gehirn sowie 4 cm des sich anschließenden Rückenmarks in toto entnommen. Danach wurde die in der Schädelbasis verbliebene Hypophyse freipräpariert und entfernt.

### 3.4 Gehirnpräparation

Das Kleinhirn wurde vom Großhirn und Stammhirn abgetrennt und in seine rechte und linke Hemisphäre sowie in einen oberen und unteren Teil des Kleinhirnwurmes aufgeteilt. Durch das Gehirn wurden dann vier Frontalschnitte gelegt: Vor und hinter der Sehnervenkreuzung sowie am kranialen und kaudalen Rand der Brücke.

Aus den einzelnen Segmenten wurden folgende Hirnareale unter makroskopischer Beurteilung herauspräpariert und folgende Proben entnommen:

#### Großhirn:

Rechte und linke Hemisphäre des Frontal-, Parietal- und Occipitalhirns, Basalganglien (Stammganglien, Großhirnkerne) mit Nucleus caudatus und Putamen, Hippocampus und Balken.

#### Zwischenhirn:

Hypophyse, Hypothalamus mit Pallidum und mit Corpora mamillaria, Thalamus.

#### Mittelhirn:

Vierhügelplatte und Mittelhirnhaube mit Großhirnschenkel.

### Rautenhirn:

Der oberste, an die Medulla oblongata angrenzende Teil (C<sub>7</sub>).

## 3.5 Ausscheidung

Zur Messung der renalen und fäkalen Ausscheidung von Digoxin wurden 2 weibliche Hunde aus einem Wurf in jeweils einem Stoffwechselkäfig gehalten. Ein Hund erhielt eine einmalige Dosis von 0,0125 mg/kg tritiummarkiertes Digoxin, der andere erhielt über 10 Tage eine tägliche Dosis von 0,0125 mg/kg KG tritiummarkiertes Digoxin intravenös appliziert. Die spezifische Aktivität betrug 780  $\mu$ Ci/mg. Die Blutentnahmen erfolgten jeweils 24 Stunden nach der täglichen Glykosidgabe.

Während der Digitalisierung sowie bis zum 24. Tag nach Absetzen des Glykosides wurden sowohl Urin, als auch Kot in 24-Stunden-Portionen gesammelt und aufgearbeitet.

## 3.6 Analytische Verfahren

### 3.6.1 Dosisbestimmung

Tritiummarkiertes Digoxin wurde mit einem ausreichenden Volumen physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen, und vor jedem Versuch wurde die Radioaktivität in 3mal 10  $\mu$ l gemessen.

Mit Hilfe der spezifischen Aktivität der für die Versuchsdurchführung zur Verfügung stehenden Substanz wurde die gesamte Glykosidmenge berechnet.

Mit einer vorher abgewogenen Einmalspritze wurde die zu applizierende Dosis entnommen und gewogen.

Nach Applizieren des Glykosides wurde die Spritze mit 5 ml physiologischer Kochsalzlösung mehrmals gespült und die in der Lösung verbliebene Restaktivität bestimmt. Diese wurde von der Aktivität der Dosis abgezogen und damit die exakt verabreichte Dosis bestimmt (Dosisrückbestimmung).

### 3.6.2 Aufarbeitung des Plasmas

Das mit einem Heparinzusatz versehene Venenblut wurde 10 Minuten bei 3.000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Anschließend wurde das Plasma abpipettiert und 2mal 0,5 ml in Zählöpfchen eingesetzt.

Nach Ansäuern mit 0,5 ml 1 n HCL wurden die Proben mit 15 ml Instagel<sup>R</sup> versetzt und die Radioaktivität im Flüssigkeits-Szintillationszähler gemessen.

Zur Bestimmung des chloroformlöslichen Anteils wurden je 20 ml Blut direkt vor der Tötung der Tiere entnommen, heparinisiert und 10 Minuten bei 3.000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Das abpipettierte Plasma wurde lyophilisiert, pulverisiert, mit 3mal 20 ml Dichlormethan/Methanol (1:1) versetzt und in einer Kühlzentrifuge bei 10.000 Umdrehungen pro Minute über 10 Minuten zentrifugiert. Die Dichlormethan/Methanol-Überstände wurden bei 37°C eingedampft und mit 10 ml H<sub>2</sub>O aufgenommen. Von der wäßrigen Phase wurden 2mal 0,5 ml zur Radioaktivitätsmessung in den Flüssigkeits-Szintillationszähler eingesetzt (A-Wert).

Anschließend wurde die wäßrige Phase dreimal mit dem doppelten Volumen Chloroform über 10 Minuten ausgeschüttelt und jeweils 2mal 0,5 ml der wäßrigen Phase zur Radioaktivitätsmessung entnommen (B-Wert).

Die Chloroformphasen wurden vereinigt und eingedampft; anschließend wurden die Rückstände mit 50 - 100 µl eines Gemisches aus Chloroform Methanol (1:1) aufgenommen und zur weiteren qualitativen Analyse auf Dünnschichtplatten aufgetragen. Durch Verbrennung der Eiweißrückstände in einem Tri-Carb-Sample-Oxidizer, Modell 306 der Firma Packard, wurde das Maß der Glykosidextraktion dieses Verfahrens überprüft. Die Extraktionsausbeute betrug 91,5 %.

### 3.6.3 Aufarbeitung des Gewebes

Die einzelnen Gewebeproben (0,5 - 3 g) wurden mit einer Schere zerkleinert und anschließend in 20 ml 96 %igem Äthanol mit einem Ultra-Turrax der Firma Janke und Kunkel KG, Staufen i. Br. homogenisiert. Die Homogenate wurden zur Extraktion des Glykosides und seiner Metabolite 10 Minuten bei 3.000 Umdrehungen zentrifugiert und die Äthanolüberstände abgehoben. Danach wurden die Homogenate noch zweimal mit 96 %igem Äthanol und einmal mit 50 %igem Äthanol extrahiert und die einzelnen Phasen vereinigt. Nach Messungen des Volumens und Durchmischung der Äthanolphasen wurden je 2mal 1,0 ml mit 10 ml Dioxan-Szintillator versetzt und zur Aktivitätsmessung in den Flüssigkeits-Szintillationszähler eingesetzt.

Zur Bestimmung der Extraktionsausbeute wurde von allen Geweberückständen das Feuchtgewicht bestimmt, eine defi-

nierte Menge entnommen und 1,5 ml Soluene/Isopropanol 1:1 und 0,5 ml  $H_2O_2$  zugesetzt. Nachdem diese Lösung 24 Stunden in einem Wasserbad bei  $37^\circ C$  auf die Geweberückstände eingewirkt hatte, wurden jeweils 15 ml Instagel<sup>R</sup> und 0,5 ml 1 n HCL zugesetzt und die Aktivität im Flüssigkeits-Szintillationszähler gemessen. Zur Kontrolle wurde ein Teil der Proben gleichzeitig in einem Tri-Carb-Sample-Oxidizer der Firma Packard, Modell 306, verbrannt. Bei beiden Verfahren zeigte sich, daß die Ausbeute der Extraktion mit Äthanol 96 - 97 % der Gesamtradioaktivität betrug.

In Vorversuchen war sichergestellt worden, daß je nach Gewebeart bei einer Homogenisierungsdauer von 3 bis 5 Minuten eine optimale Glykosidausbeute erreicht wurde. Die fraktionierte Bestimmung der Aktivität in den einzelnen Extraktionsschritten ergab nach der ersten Extraktion 74 - 89 %, nach der zweiten 8 - 13 % und nach der dritten Extraktion nur noch 1 - 6 % der Gesamtausbeute an Digoxin; lediglich in den Ausscheidungsorganen erbrachte die vierte Extraktion mit 50 %igem Äthanol noch eine nennenswerte Ausbeute.

Zur Bestimmung der chloroformlöslichen und chloroformunlöslichen Fraktion wurden je 10 ml des Äthanolextraktes eines jeden Gewebes zur Trockne gebracht. Der Rückstand wurde mit 5 ml  $H_2O$  aufgenommen und 0,5 ml zur Aktivitätsbestimmung in den Flüssigkeits-Szintillationszähler eingesetzt (A-Wert). Nach dreimaligem Ausschütteln der wäßrigen mit dem doppelten Volumen Chloroform über 10 Minuten wurden jeweils 2 mal 0,5 ml der wäßrigen Phase zur Radioaktivitätsmessung entnommen und in den Flüssigkeits-Szintillationszähler eingesetzt (B-Wert).

Zur dünnschichtchromatographischen Auftrennung wurden größere Mengen (10 - 20 g) der einzelnen Gewebe in Portionen von 2 g wie oben beschrieben mit Äthanol extrahiert, die Äthanolphasen vereinigt und in einem Rotavapor eingeeengt.

Die eingeeengten Rückstände der Äthanolextrakte der Gewebe wurden mit 5 ml  $H_2O$  aufgenommen und zur Entfernung lipoidlöslicher Verunreinigungen zweimal mit 10 ml Petroläther über 10 Minuten geschüttelt, bei 3.000 U/Min zentrifugiert und die abpipettierten Petrolätherphasen nach Aktivitätsmessung verworfen. Die wäßrigen Phasen wurden dreimal mit je 10 ml Chloroform 10 Minuten geschüttelt, bei 3.000 Umdrehungen zentrifugiert und die jeweils abgehobenen Chloroformphasen vereinigt und zur Trockne gebracht. Die eingeeengten Chloroformextrakte wurden mit 50 - 100  $\mu$ l Chloroform/Methanol 1:1 aufgenommen und mit nicht markierten Referenzsubstanzen strichförmig auf Kieselgel-Platten aufgebracht.

Die Hypophyse wurde wegen ihrer geringen Größe in toto gewogen, in ein Glastöpfchen gegeben und mit 1,5 ml Isopropanol/Soluene<sup>R</sup> (1:1) sowie 0,5 ml Wasserstoffperoxid versetzt. Nach Inkubation in ein Wasserbad wurde die Hypophyse bei 37°C aufgelöst. Danach wurden 15 ml Instagel<sup>R</sup> und 0,5 ml 1 n HCl zugegeben und die Radioaktivität im Szintillationszähler bestimmt.

#### 3.6.4 Aufarbeitung des Urins

Von den angefallenen Urinportionen wurden nach Volumenmessung und sorgfältiger Durchmischung 2mal 0,5 ml direkt entnommen, mit Szintillationsflüssigkeit versetzt und die Gesamtaktivität bestimmt.

Zur Bestimmung des chloroformlöslichen und chloroformunlöslichen Anteils wurden 5 ml Urin dreimal mit dem doppelten Volumen Chloroform über 10 Minuten geschüttelt, dann bei 3.000 U/Min. zentrifugiert und die Chloroformphasen entnommen. 3mal 0,2 ml der Wasserphase wurden zur Aktivitätsmessung in den Flüssigkeits-Szintillationszähler eingesetzt (B-Wert = chloroformunlöslicher Anteil).

Zur Analyse des chloroformlöslichen Anteils wurde der 24-Stunden-Urin in toto im Scheidetrichter dreimal gegen das doppelte Volumen Chloroform ausgeschüttelt. Die vereinigten Chloroformphasen wurden in einen Rundkolben überführt, am Rotavapor eingeeengt, die Rückstände mit 10 ml Wasser aufgenommen und nach Reinigung mit Petroläther erneut dreimal mit der doppelten Menge an Chloroform extrahiert. Die Chloroformphasen wurden vereinigt und zur dünnenschichtchromatographischen Analyse eingeeengt.

Der H<sub>2</sub>O-lösliche Anteil des Urins konnte aus dem mit Ammoniumsulfat gesättigten Urin (50 g/100 ml) durch dreimalige Extraktion mit dem halben Volumen Äther/Äthanol (3:1) zu 80 - 90 % extrahiert werden (Kuhlmann u. Mitarb., 1974). Die organischen Phasen wurden vereinigt, zur Trockne gebracht, mit 10 ml H<sub>2</sub>O erneut aufgenommen und nach Sättigung mit Ammoniumsulfat zweimal gegen 10 ml Äther/Äthanol (3:1) ausgeschüttelt. Die vereinigten Äther/Äthanol-Phasen wurden dann auf eine mit 5 g Aluminiumoxyd (Wassergehalt 3,8 %) gefüllte Säule mit einem Durchmesser von 0,5 cm gegeben und die Radioaktivität nacheinander mit 96 %igem Äthanol, 50 %igem Äthanol und mit einer Äthanol/2 %igen wäßrigen Ammoniumhydroxydlösung fraktioniert eluiert. Nach BARLOW und KELLIE (1959) sowie HERMAN und REPKE (1964) enthalten der Durchlauf sowie das mit 96 %igem Äthanol gewonnene Eluat nicht konjugierte, polare Metabolite, die zweite Fraktion

Schwefelsäurekonjugate und die dritte Fraktion Glucuronsäurekonjugate. Die drei Fraktionen wurden getrennt gesammelt, jeweils auf drei Schliffgläser verteilt und am Rotavapur zur Trockne gebracht. Je ein Glas der 3 Fraktionen wurde mit 5 ml Acetatpuffer pH 5,2 versetzt und diente als Leerwert. Dem 2. Glas jeder Fraktion wurden je 5 ml Arylsulfatase zugegeben und das 3. Glas einer jeden Fraktion wurde mit je 5 mg  $\beta$ -Glucuronidase versetzt. Die Enzyme waren aus *Helix pomatia* gewonnen (BOEHRINGER, Mannheim; Fremdkaktivität 2 %). Alle Ansätze wurden mit Acetatpuffer auf ein Endvolumen von 5 ml gebracht und bei 37°C 48 Stunden inkubiert. Nach der Inkubation wurde von allen Proben vor und nach dreimaliger Extraktion mit Chloroform ein Aliquot zur Bestimmung der Radioaktivität entnommen, um das Ausmaß der Spaltung festzustellen. Die Chloroformextrakte wurden eingedampft und zur dünn-schicht-chromatographischen Analyse der lipophilen Spaltprodukte weiter verarbeitet.

### 3.6.5 Aufarbeitung des Kotes

Die Kotportionen wurden mit dem zwei- bis dreifachen Volumen Aceton (DAB6) homogenisiert und nach Zentrifugieren bei 3.000 Umdrehungen pro Minute über 20 Minuten, wurden die Überstände dekantiert. Nach zweimaligem Wiederholen dieses Vorganges, wurden die Acetonphasen vereinigt und das Volumen gemessen. Um einen Farbquench auszuschalten, wurden 3mal 0,5 ml einer jeden Phase mit 0,5 ml  $H_2O_2$  und mit 1,5 ml eines Soluene<sup>R</sup> (Packard)/Isopropanol-Gemisches (1:1) gebleicht. Nach 24 Stunden wurden die Proben mit 0,5 ml 1 n HCl angesäuert, mit 15 ml Instagel<sup>R</sup> versetzt und zur Zählung in den Flüssigkeits-Szintillationszähler eingesetzt. Die Radioaktivität

der Proben konnte so ohne starken Löscheffekt bestimmt werden.

Zur Bestimmung der Extraktionsausbeute aus dem Kot, wurden 5 Proben eines jeden Homogenates getrocknet und in einem Tri-Carb-Sample-Oxidizer der Firma Packard, Modell 306, verbrannt. Die Extraktionsausbeute betrug  $90 \% \pm 5 \%$ .

Zur Bestimmung des chloroformunlöslichen Anteils im Kot, wurden jeweils 5 ml der Acetonextrakte zur Trockne gebracht, mit 5 ml  $H_2O$  aufgenommen und die Radioaktivität bestimmt (A-Wert). Nach dreimaligem Ausschütteln mit Chloroform wurde die Radioaktivität der wäßrigen Phase gemessen (B-Wert).

Zur qualitativen Analyse des chloroformlöslichen und chloroformunlöslichen Anteils wurden die Acetonphasen filtriert, am Rotavapur eingeengt und mit  $H_2O$  aufgenommen. Nach erneutem Filtrieren und Reinigen mit Petroläther, wurden die wäßrigen Lösungen durch Ausschütteln mit dem doppelten Volumen Chloroform in einen chloroformlöslichen und -unlöslichen Anteil aufgetrennt. Diese beiden Fraktionen wurden dann, wie oben in der Aufarbeitung des Urins beschrieben, zur qualitativen Analyse aufgearbeitet. Damit kein unbemerkter Radioaktivitätsverlust oder Veränderung der Ausgangssubstanz auftrat, wurden alle Extraktionsphasen durch Radioaktivitätsmessungen verfolgt. Außerdem wurden alle Aufarbeitungsgänge mit dem Reinglykosid durchgeführt. Der Anteil an Tritiumwasser betrug weniger als 2 %.

### 3.7 Dünnschichtchromatographie

Die Trennung und Identifizierung des Digoxins und seiner Metaboliten wurde durch Adsorptionschromatographie auf DC-Fertigplatten, Kiesel-Gel (Fa. Merck, Darmstadt), mit einer Schichtdicke von 0,25 mm durchgeführt.

Die eingedampften Rückstände der Chloroformextrakte von Plasma, Gewebe, Urin und Kot sowie die Chloroformextrakte nach Inkubation wurden mit 50 bis 100 µl Chloroform/-Methanol (1:1) aufgenommen und mit nicht markierten Referenzsubstanzen strichförmig auf die Dünnschichtplatten aufgetragen.

Nachdem die Platten getrocknet waren, wurden sie viermal mit frisch angesetzter Chloroform-Acetonlösung (1:1) als Laufmittel entwickelt. Die Laufstrecke betrug 16 cm. Durch einen Dünnschicht-Scanner Typ LB 2723 (Fa. Berthold Friesecke) wurde die Radioaktivität auf den Platten dargestellt. Die Referenzsubstanzen wurden nach Besprühen mit KAISER'S Reagenz (1955) (10 ml 0,3 %iges Chloramin T und 40 ml 25 %ige Trichloressigsäure) und Aktivierung bei 110°C über 10 Minuten durch UV-Fluoreszenz bei 366 nm sichtbar gemacht und mit der Lokalisation der Radioaktivität verglichen.

Quantitativ wurden die Chromatogramme durch automatische Integration (Integrator der Fa. Berthold LB 2437) der radioaktiven Stellen ausgewertet. Zur Kontrolle wurden die Chromatogramme, besonders die mit niedrigerer Aktivität, in Bahnen von 0,5 cm Abstand ausgekratzt. Das Kieselgel wurde jeweils mit 1 ml aqua bidest über 24 Stunden aufgelöst und die Radioaktivitätsverteilung nach Zusatz von 15 ml Instagel<sup>R</sup> im Flüssigkeits-Szintillationszähler bestimmt.

### 3.8 Radioaktivitätsmessung

Die Messung der Tritiumaktivität erfolgte in einem Liquid-Szintillations-Spectrometer System Marck II der Firma Nuclear Chicago oder in einem Tri-Carb-Szintillationszähler Modell 3380 der Firma Packard. Zur Zähl-  
beute und zur Quenchkorrektur wurde ein externer Standard in Kombination mit der Kanalverhältnismethode benutzt. Die dem Gerät angeschlossene Recheneinheit gab die Meß-  
werte in Zerfälle pro Minute an (TPM = total counts per minute). Als Szintillationsflüssigkeit dienten entweder eine selbst hergestellte Dioxan-Szintillationsflüssigkeit (10 % Naphthalin, 0,98 % Diphenyloxazol, 0,02 % 2,2-p-Phenyl- bis (5-Phenyloxazol) in Dioxan) oder Instagel<sup>R</sup> der Firma Packard. Alle Messungen erfolgten doppelt und der Mittelwert wurde für die Berechnung verwandt. Durch entsprechende Wahl der Zählzeiten blieb die Abweichung bei den Mehrfachbestimmungen immer unter 5 %, zudem liefen bei jeder Meßreihe ein Standard und ein Leerwert mit.

### 3.9 Berechnung der Digoxinkonzentrationen und statistische Berechnungen

Die einzelnen Digoxinkonzentrationen wurden aus den im Szintillationszähler gemessenen TPM's nach der Formel

$$X = \frac{\text{TPM} \times V}{P \times \text{spez. Akt.} \times 2,22}$$

auf ein Gramm Feuchtgewicht bzw. ein ml Flüssigkeit berechnet.

- X = Glykosidkonzentration in ng/g Feuchtgewicht bzw. ng/ml Urin oder Plasma  
V = Volumen der eingesetzten Probe  
P = Probengewicht, aus dem Digoxin extrahiert wurde  
spezifische Aktivität in  $\mu\text{Ci}/\text{mg}$   
2.22 = Umrechnungsfaktor des Szintillationszählers.

Unter Einbeziehung der einzelnen Organgewichte (4.2) wurde aus "x" die noch im Körper des Hundes zum Zeitpunkt der Tötung vorhandene Digoxinmenge berechnet. Die Berechnung der arithmetischen Mittelwerte erfolgte mit der Gleichung  $\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$  + Standardabweichung (SD) der Einzelwerte. Die Prüfung der Signifikanz wurde mittels des STUDENT-Tests für ungepaarte Kollektive vorgenommen. Die Berechnung der Eliminationskonstanten ( $k_e$ ) und Halbwertszeiten ( $t_{1/2}$ ) für Gewebe, Plasma, Kot und Urin erfolgte aus dem Konzentrationsabfall bzw. der 24-Stunden-Digoxinausscheidung mit der Gausschen Methode der kleinsten Fehlerquadrate und nach der Gleichung

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_e} \quad (\text{Gleichung 6 nach Gladtko und von Hattingberg 1973})$$

Die Berechnung der Kumulationsfaktoren erfolgte nach der Gleichung 376 von Gibaldi und Perrier (1975).

$$R = \frac{1}{1 - e^{-k_e \times \tau}}$$

R = Kumulationsfaktor;  $\tau$  = Dosierungsintervall;  
 $k_e$  = Eliminationskonstante;  $t_{1/2}$  = Eliminationshalbwertszeit.

Die Korrelationskoeffizienten mit Hilfe der einfachen und multiplen Regression wurden, wie alle anderen Berechnungen, mit einem programmierbaren Hewlett-Packard-Kleincomputer, Modell 98 15 A, berechnet.

#### 4. ERGEBNISSE

##### 4.1 Digoxinspiegel während der Aufsättigung

Die Abbildung 1 zeigt den Glykosidgehalt im Plasma von 9 Beagle-Hunden während täglicher intravenöser Gabe von 0,0125 mg/kg tritiummarkiertem Digoxin über 10 Tage sowie 24 Stunden bis 72 Stunden nach letzter Digoxingabe. Da sich in der dünnschichtchromatographischen Analyse ausschließlich sowohl im Plasma, als auch im Gewebe, die unveränderte Ausgangssubstanz darstellt, wurde die jeweils gemessene Gesamtaktivität mit Hilfe der spezifischen Aktivität in ng berechnet. Die einzelnen Konzentrationen werden im folgenden in ng/ml Plasma bzw. in ng/g Gewebefeuchtgewicht angegeben.

Der Plasmaspiegel steigt fast kontinuierlich an, um etwa am 7. Tag mit 1,19 ng/ml ein Plateau zu erreichen. Am 10. Tag betrug die mittlere Digoxinkonzentration im Plasma das 3,3fache der Plasmakonzentration nach einmaliger Gabe.

Tabelle Nr. 1 zeigt die Plasmaglykosidkonzentration von 11 Beagle-Hunden jeweils 24 Stunden nach 1-10tägiger intravenöser Gabe von 0,0125 mg  $H^3$ -Digoxin pro kg Körpergewicht und 48 bzw. 72 Stunden nach Beendigung der Digoxinapplikation. Anhand der Tabelle als auch der Zeichnung ist zu ersehen, daß nach etwa 7 Tagen Plasmadigoxinspiegel gefunden werden, die auch beim Menschen als Serumglykosidkonzentration im therapeutischen Normbereich gelten (SMITH et al., 1969; LARBIG et al., 1972; STROBACH et al., 1972).

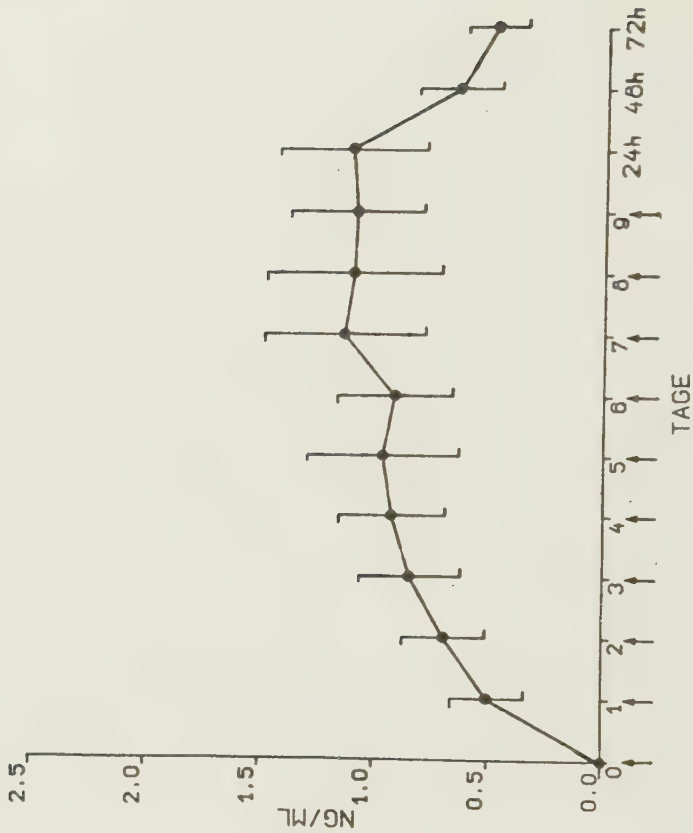


ABBILDUNG NR. 1

Glykosidkonzentration im Plasma in ng/ml jeweils 24 Stunden nach 1-10tägiger i.v. Gabe von 0,0125 mg pro kg Körpergewicht  $H^3$ -Digoxin und 48 Stunden bzw. 72 Stunden nach Beendigung der Digoxingabe (n = 9)

| Hunde-Nr. | Anzahl der Digoxin - Applikationen |      |      |      |      |      |      |      |      |      | Stunden nach<br>letzter Gabe |      |
|-----------|------------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------------------------------|------|
|           | 1                                  | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    | 10   | 48 h                         | 72 h |
| 1         | 0,37                               |      |      |      |      |      |      |      |      |      |                              |      |
| 2         | 0,33                               |      |      |      |      |      |      |      |      |      |                              |      |
| 3         | 0,40                               | 0,70 | 0,60 | 0,68 | 0,75 | 0,85 | 0,82 | 1,02 | 1,08 | 1,14 |                              |      |
| 4         | 0,35                               | 0,62 | 1,04 | 0,90 | 1,15 | 0,85 | 0,94 | 1,07 | 1,00 | 1,18 |                              |      |
| 5         | 0,80                               | 0,98 | 1,20 | 1,22 | 1,30 | 1,15 | 1,37 | 1,50 | 1,53 | 1,24 | 0,56                         |      |
| 6         | 0,51                               | 0,60 | 0,73 | 1,23 | 0,84 | 0,59 | 0,99 | 1,20 | 0,81 | 0,71 | 0,42                         |      |
| 7         | 0,55                               | 0,60 | 0,72 | 0,81 | 0,80 | 0,89 | 1,05 | 1,08 | 1,11 | 1,00 | 0,62                         | 0,35 |
| 8         | 0,58                               | 0,72 | 1,05 | 0,80 | 1,54 | 1,05 | 1,75 | 1,12 | 1,06 | 0,92 | 0,66                         | 0,43 |
| 9         | 0,58                               | 0,54 | 0,66 | 0,96 | 0,90 | 1,01 | 1,00 | 0,82 | 0,99 | 0,85 | 0,48                         | 0,40 |
| 10        | 0,60                               | 0,82 | 0,98 | 1,16 | 1,05 | 1,26 | 1,49 | 1,31 | 1,29 | 1,58 | 0,88                         | 0,52 |
| 11        | 0,80                               | 1,13 | 0,91 | 1,18 | 1,25 | 1,24 | 1,44 | 1,67 | 1,67 | 1,66 | 0,89                         | 0,59 |
| MW        | 0,53                               | 0,75 | 0,88 | 0,99 | 1,06 | 0,98 | 1,21 | 1,23 | 1,17 | 1,14 | 0,64                         | 0,46 |
| ± SD      | 0,11                               | 0,2  | 0,21 | 0,21 | 0,27 | 0,24 | 0,31 | 0,26 | 0,29 | 0,32 | 0,18                         | 0,10 |

Glykosidkonzentration im Plasma in ng/ml jeweils 24 Stunden nach 1-10tägiger i.v. Gabe von 0,0125 mg pro kg Körpergewicht H-Digoxin und 48 bzw. 72 Stunden nach Beendigung der Digoxingabe.

#### 4.2 Verhältnis der einzelnen Organgewichte zum Gesamtgewicht des Beagle-Hundes

Zur Überprüfung der Literaturangaben (3) wurden die Organe von 3 Beagle-Hunden gewogen und das jeweilige Verhältnis zum Gesamtgewicht errechnet.

##### Anteil der Organe am Gesamtgewicht in %

|               | Hund 1 | Hund 2 | Hund 3 | MW    | Literatur |
|---------------|--------|--------|--------|-------|-----------|
| Herz          | 0,77   | 0,67   | 0,63   | 0,69  | 1         |
| Niere         | 0,6    | 0,53   | 0,55   | 0,56  | 0,5       |
| Nebennieren   | 0,016  | 0,014  | 0,0155 | 0,015 | 0,2       |
| Leber         | 2,98   | 2,91   | 3,66   | 3,2   | 4,0       |
| Lunge         | 0,88   | 0,89   | 0,98   | 0,92  | 1,0       |
| Milz          | 1,07   | 0,65   | 0,52   | 0,75  | 0,4       |
| Pankreas      | 0,23   | 0,22   | 0,25   | 0,2   | 0,2       |
| Dünndarm      | 2,85   | 2,73   | 3,0    | 2,8   | 2,8       |
| Dickdarm      | 0,62   | 0,66   | 0,688  | 0,65  | 0,65      |
| Magen         | 0,94   | 0,89   | 0,785  | 0,87  | 0,9       |
| Fett          | -      | -      | -      | -     | 20,0      |
| Skelettmuskel | -      | -      | -      | -     | 40,0      |
| Gehirn        | 0,738  | 0,62   | 0,73   | 0,7   | 1,0       |

Die Zahlen der obenstehenden Tabelle zeigen eine Übereinstimmung mit den Literaturangaben. Die Abweichung der Milz in den eigenen Ergebnissen zum prozentualen Anteil am Gesamtgewicht in der Literatur wird durch die unterschiedliche Blutfülle bedingt. Da die Werte der Literatur aus einem größeren Kollektiv stammen, werden sie im Weiteren zur Umrechnung der Meßgrößen benutzt.

#### 4.3 Organ- und Gewebekonzentration nach einmaliger Gabe

Nach einmaliger intravenöser Digoxingabe wurden in den einzelnen Organen und Geweben folgende Konzentrationen gemessen:

Die Herzvorhöfe weisen mit 12,5 ng/g Feuchtgewicht (FG) eine deutlich geringere Konzentration gegenüber den Herzkammern mit 20 ng/g FG auf. Die linke Herzkammer hat mit 21,5 ng/g FG eine etwa 20 % höhere Konzentration, als die rechte, ebenso ist das Verhältnis zwischen dem linken und dem rechten Vorhof.

Die Niere als führendes Ausscheidungsorgan von Digoxin enthält mit 88,9 ng/g FG eine etwa viermal so hohe Konzentration an Digoxin, wie die Herzkammern. Eine über der Mehrzahl der anderen Gewebe liegende Konzentration von 14,2 ng/g Feuchtgewicht weisen die Nebennieren auf und entsprechen damit in etwa der Konzentration der Herzvorhöfe. Die Leber als Ort der Metabolisierung weist mit 8,8 ng/g Feuchtgewicht nur 43 % der Digoxinkonzentration in den Herzkammern auf und liegt damit nur gering über der Pankreaskonzentration von 7,4 ng/g FG. Die hohen Konzentrationen in Gallenblase, Dünndarm und Dickdarm

- siehe Tabelle Nr. 10 - resultieren aus einer Digoxin-Konzentration von 1,19 µg/ml in der Gallenflüssigkeit; ebenso läßt sich der Wert von 21,8 ng/g FG der Harnblase bei einer Urinkonzentration von 0,18 µg/ml erklären. Die Skelettmuskulatur enthält als größter Anteil am Gesamtkörpergewicht mit 4,8 ng/g FG nur 24 % der Glykosidkonzentration in den Herzkammern, während das Diaphragma mit einer Konzentration von 6,3 ng/g FG um 1/3 über der Skelettmuskulatur-Konzentration liegt und damit die halbe Digoxinkonzentration der Vorhöfe enthält. Die weiblichen Geschlechtsorgane entsprechen mit ihrer Digoxinkonzentration von 5,2 ng/g FG in etwa der Konzentration in der Skelettmuskulatur.

Läßt man die Hypophyse, die mit 26,2 ng/g FG die 16 1/2fache Konzentration gegenüber dem Gesamthirn aufweist, außer Betracht, so liegt die durchschnittliche Gehirnkonzentration von Digoxin mit 1,6 ng/g deutlich unter der Konzentration aller Organe; dabei ist jedoch beachtenswert, daß die phylogenetisch älteren Hirnteile 28 % mehr Digoxin pro Gramm enthalten, als das Telencephalon.

TABELLE NR. 2

| Gewebe        | % KG | ng/g<br>Feuchtgewicht | µg/Organ | %<br>Gesamtdosis |
|---------------|------|-----------------------|----------|------------------|
| Herz          | 1    | 16,3                  | 2,5      | 1,33             |
| Leber         | 4    | 8,7                   | 5,2      | 2,77             |
| Nieren        | 0,5  | 88,9                  | 6,7      | 3,57             |
| Lunge         | 1,0  | 7,0                   | 1,1      | 0,59             |
| Milz          | 0,4  | 5,8                   | 0,35     | 0,19             |
| Pankreas      | 0,2  | 7,4                   | 0,22     | 0,12             |
| Nebennieren   | 0,02 | 14,2                  | 0,04     | 0,02             |
| Skelettmuskel | 40,0 | 4,8                   | 28,8     | 15,36            |
| Fettgewebe    | 20,0 | 1,3                   | 3,9      | 2,08             |
| Gehirn        | 1,0  | 1,6                   | 0,24     | 0,13             |

Die Tabelle Nr. 2 zeigt eine rechnerische Gegenüberstellung von ng/g Feuchtgewicht und µg/Gesamtorgan nach einer einmaligen intravenösen Applikation von 0,1875 mg H<sup>3</sup>-Digoxin (= 0,0125 mg H<sup>3</sup>-Digoxin pro kg Körpergewicht) bei einem Körpergewicht von 15 kg).

Bei der Gegenüberstellung zeigt sich, daß die Skelettmuskulatur erwartungsgemäß bei einem prozentualen Anteil am Gesamtkörpergewicht von 40 % die Hauptmenge der verabreichten Glykosiddosis enthält, und zwar 28,0 µg, das sind 15,36 % der gegebenen Dosis oder das 11,2fache der im Herzen vorhandenen Glykosidmenge.

Die Nieren, obwohl sie nur halb so viel zum Körpergewicht des Beagle-Hundes beitragen, wie das Herz, enthalten bei einer Konzentration von 88,9 ng/g Feuchtgewicht etwa dreimal so viel Digoxin, wie das Herz. Leber und Fettgewebe enthalten entsprechend ihrem Anteil am Gesamtkörpergewicht jeweils etwa die doppelte Digoxinmenge des Herzens.

Während Herz, Lunge und Gehirn jeweils 1 % des Körpergewichtes darstellen, bindet die Lunge im Vergleich zum Herzen nur etwa 1/3 und das Gehirn sogar nur 1/10 der Glykosidmenge im Herzen, dies entspricht auch etwa der Menge, die man jeweils in Pankreas und Milz findet.

#### 4.4 Organ- und Gewebekonzentration von Digoxin nach zehnmaliger Gabe

Nach täglicher intravenöser Digoxingabe von 0,0125 ng/kg Körpergewicht über 10 Tage wurden in den einzelnen Organen und Geweben folgende Konzentrationen gemessen:

Die Herzvorhöfe weisen mit einer Digoxinkonzentration von 29,6 ng/g Feuchtgewicht nur 64 % der Konzentration der Herzkammern auf, die 46,3 ng/g Feuchtgewicht beträgt. Die linke Herzkammer enthält mit 48,75 ng/g FG eine um 10 % höhere Konzentration, als die rechte. Bei den Vorhöfen beträgt die Zunahme der Konzentration vom rechten zum

linken 19 %. Die Niere als Ausscheidungsorgan enthält mit 247,5 ng/g Feuchtgewicht im Vergleich zu den Herzkammern pro g Feuchtgewicht 5,4mal so viel Digoxin. Die Nebennieren enthalten 37,45 ng/g Feuchtgewicht und liegen hiermit deutlich unter der Konzentration der Herzkammern.

Die Leber enthält mit 27,00 ng/g FG etwa 60 % der Konzentration der Herzkammern und liegt damit nur gering unter der Pankreaskonzentration von 29,5 ng/g Feuchtgewicht und über der Magenkonzentration von 22,9 ng/g FG.

Die Digoxinkonzentration von 124,7 ng/g FG in der Gallenblase, von 56,35 ng/g FG im Dünndarm und von 19,4 ng/g Feuchtgewicht im Dickdarm resultiert wahrscheinlich aus einer Digoxinkonzentration von 1,02 µg/ml in der Gallenflüssigkeit, ebenso wie die Digoxinkonzentration von 16,3 ng/g der Harnblase durch eine Konzentration von 0,3 µg/ml im Urin bedingt ist. Die Skelettmuskulatur enthält bei einem Anteil am Gesamtkörpergewicht von 40 % eine Glykosidkonzentration von 10,1 ng/g Feuchtgewicht. Dies entspricht 22 % der Konzentration in den Herzkammern. Das Diaphragma mit einer Glykosidkonzentration von 17,0 ng/g liegt mit fast 70 % über der Skelettmuskelkonzentration und damit etwa im Konzentrationsbereich der Lunge. Mit 12,1 ng/g FG liegt die Konzentration in den weiblichen Geschlechtsorganen in etwa im gleichen Bereich, wie in der Skelettmuskulatur.

Das Fett, bei einem Anteil am Gesamtkörpergewicht von 20 %, enthält mit 3,2 ng/g Feuchtgewicht nur 32 % der Konzentration in der Skelettmuskulatur.

Das Gehirn liegt mit einer Durchschnitts-Digoxinkonzentration von 23,4 ng/g Feuchtgewicht um das 2,3fache über

der Konzentration der Skelettmuskulatur und erreicht 62 % der Konzentration im Herzen.

In den Hirnarealen zeigen sich beachtliche Konzentrationsunterschiede. Das Teleencephalon enthält mit 8,7 ng/g nur 44 % der Konzentration im restlichen Gehirn.

Als nächstes folgt das Rückenmark mit einer Konzentration von 16,3 ng/g, dann das Mesencephalon mit 20,1 ng/g Feuchtgewicht, das Rhombencephalon mit 20,5 ng/g und als letztes das Diencephalon mit 22,3 ng/g Feuchtgewicht.

Rechnet man die Hypophyse, die wegen ihres geringen Gewichtes und ihres Digoxingehaltes von 74,3 ng/g FG nicht in den Durchschnittsberechnungen enthalten ist, mit hinzu, so kommt das Diencephalon mit 32,8 ng/g FG in den Konzentrationsbereich des Herzens und liegt mit 40 % über der Durchschnittskonzentration im Gehirn.

TABELLE NR. 3

Gegenüberstellung der Konzentration von ng/g Feuchtgewicht und µg/Gesamtorgan nach täglicher intravenöser Applikation von 0,0125 mg/kg Körpergewicht über 10 Tage bei einem KG von 15 kg.

| Gewebe        | % KG | ng/g<br>Feuchtgewicht | µg/Organ = | % Gesamtdosis |
|---------------|------|-----------------------|------------|---------------|
| Herz          | 1    | 37,9                  | 5,7        | 0,30          |
| Leber         | 4    | 27,0                  | 16,2       | 0,86          |
| Nieren        | 0,5  | 247,5                 | 18,6       | 0,99          |
| Lunge         | 1    | 17,6                  | 2,6        | 0,14          |
| Milz          | 0,4  | 12,4                  | 0,7        | 0,04          |
| Pankreas      | 0,2  | 29,5                  | 0,9        | 0,05          |
| Nebennieren   | 0,02 | 37,4                  | 0,112      | 0,01          |
| Skelettmuskel | 40,0 | 10,1                  | 60,6       | 3,23          |
| Fettgewebe    | 20,0 | 3,2                   | 9,6        | 0,51          |
| Gehirn        | 1,0  | 23,4                  | 3,5        | 0,19          |

Die Tabelle Nr. 3 zeigt die rechnerische Gegenüberstellung von ng/g Feuchtgewicht und µg/Gesamtorgan nach täglicher intravenöser Applikation über 10 Tage von insgesamt 1,875 mg H<sup>3</sup>-Digoxin.

Die Skelettmuskulatur enthält bei einem Anteil am Gesamtkörpergewicht von 40 % die 10,6fache Glykosidmenge des Herzens, und zwar 60,6 µg. Die Nieren enthalten, obwohl sie nur die Hälfte des Herzgewichtes haben, mit 18,6 µg mehr als dreimal so viel Digoxin wie das Herz und die Leber enthält mit 16,2 µg fast dreimal mehr.

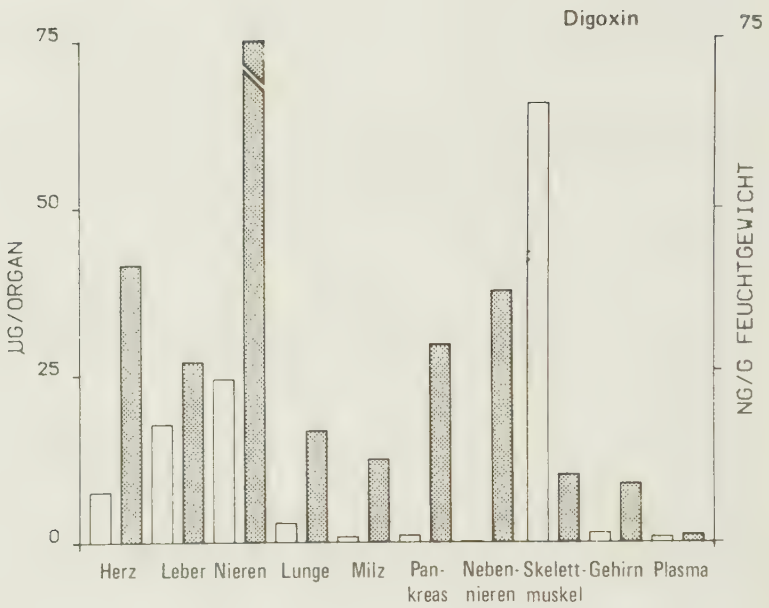


ABBILDUNG NR. 2

Gegenüberstellung der Konzentration von ng/g Feuchtgewicht  und µg/Gesamtorgan  nach täglicher intravenöser Applikation von 0,0125 mg/kg Körpergewicht über 10 Tage (n = 2).

Herz, Lunge und Gehirn stellen jeweils 1 % des Gesamtkörpergewichtes dar, die Lunge enthält nur etwa 1/2 und das Gehirn etwa 2/3 der Glykosidmenge, die das Herz enthält.

#### 4.5 Kumulation von Digoxin

Vergleich der Konzentration nach einmaliger und zehnmaliger Applikation in ng/g Feuchtgewicht.

Nach Dettli (1975) versteht man unter einer Kumulation, daß nach wiederholter Gabe von Arzneimitteln ein höherer Arzneimittelgehalt vorliegt, als nach einmaliger Gabe. Das Ausmaß der Kumulation stellt nach GLADTKE und VON HATTINGBERG (1973) eine Funktion der Anzahl der Dosen je Eliminationshalbwertszeit dar und damit des relativen Dosierungsintervalls. Die Arzneimittelmenge im Körper nimmt jedoch nicht stetig von Dosis zu Dosis zu, sondern strebt nach DOST (1968) den sog. Kumulationsgrenzwert an, denn die in einem Dosierungsintervall ausgeschiedene Arzneimittelmenge ist stets ein fester Bruchteil der im Organismus vorhandenen Menge. Entspricht demnach die zugeführte Dosis der pro Dosierungsintervall ausgeschiedenen Arzneimittelmenge, so ist der Kumulationsgrenzwert erreicht. Der Kumulationsfaktor (R) gibt das Ausmaß der Kumulation an. Er zeigt, wievielfach größer die maximale Arzneimittelmenge als die Einzeldosis im Organismus bei Erreichen des Kumulationsgrenzwertes ist. Der Kumulationsgrenzwert R ist ein Maß für die Kumulation von Arzneimitteln im Körper. Diese ist in einem geforderten Einkammermodell mit rascher Invasion und reiner Elimination erster Ordnung (GIBALDI und PERRIER, 1975) nur von der Eliminationskonstante ( $k_e$ ) und dem Dosierungsintervall ( $\tau$ ) abhängig. Diese Annahme trifft für die Gewebe des Beagle-Hundes - das Gehirn ausgenommen - zu.

Die Digoxinkonzentration, die jeweils 24 Stunden nach einmaliger und zehnmaler intravenöser Applikation von 0,0125 mg  $H^3$ -Digoxin pro kg Körpergewicht in den Geweben und Hirnarealen in ng/g Feuchtgewicht gemessen wurden, sind in der Abb. Nr. 3 als Säulendiagramm dargestellt. Der Kumulationsfaktor R ist definiert durch  $C_{10} : C_1$ . Der mittlere Kumulationsfaktor für die Gewebe beträgt 2,6. Die geringste Kumulation zeigen Milz, Nierenmark und Skelettmuskel mit einem Faktor von 2,1. Darauf folgen linker Vorhof und linke Kammer mit 2,3, der rechte Vorhof und die rechte Kammer mit einem Faktor von 2,4 sowie die Nierenrinde mit 2,7. Den größten Kumulationsfaktor in den Geweben, außer dem Gehirn, weist das Pankreas mit 4,0 auf. Allein der mittlere Kumulationsfaktor des Gehirns übertrifft diesen Wert um das fast 3fache. Der mittlere Faktor der Hirnareale von 11,6 übertrifft den Faktor der restlichen Gewebe von 2,6 um das 4 1/2fache. Der geringste Wert des Gehirns (Frontalhirn 6,8) liegt noch 70 % über dem höchsten Faktor des Gewebes von 4,0. Nach dem Frontalhirn folgt der Lobus parietalis mit 7,1 und der Lobus occipitalis mit 8,2. Der mittlere Kumulationsfaktor für das Telencephalon beträgt 7,3, Diencephalon 13,8, für das Mesencephalon 13,4 und für das Rhombencephalon 10,7. Den größten Kumulationsfaktor des Rhombencephalons weist die Medulla sup. mit dem Faktor 12 auf, gefolgt vom Cerebellum mit 11,2, der Medulla inf. mit 11,0 und der Pons mit 10,1. Den niedrigsten Kumulationsfaktor des Rhombencephalons weist der Kleinhirnwurm mit 9,4 auf.

Beim Vergleich zwischen experimentell gewonnenem Kumulationsfaktor ( $\frac{C_{10}}{C_1}$ ) und dem nach der Gleichung 376 von GIBALDI und PERRIER (1975) errechneten Kumulationsfaktor ( $\frac{\tau}{C_1}$ ), wobei  $\tau$  mit Hilfe der Eliminationskonstanten ( $k_e$ ) und der Digoxinkonzentration nach einmaliger Glykosidgabe errechnet wird, zeigt sich beim Gehirn keine

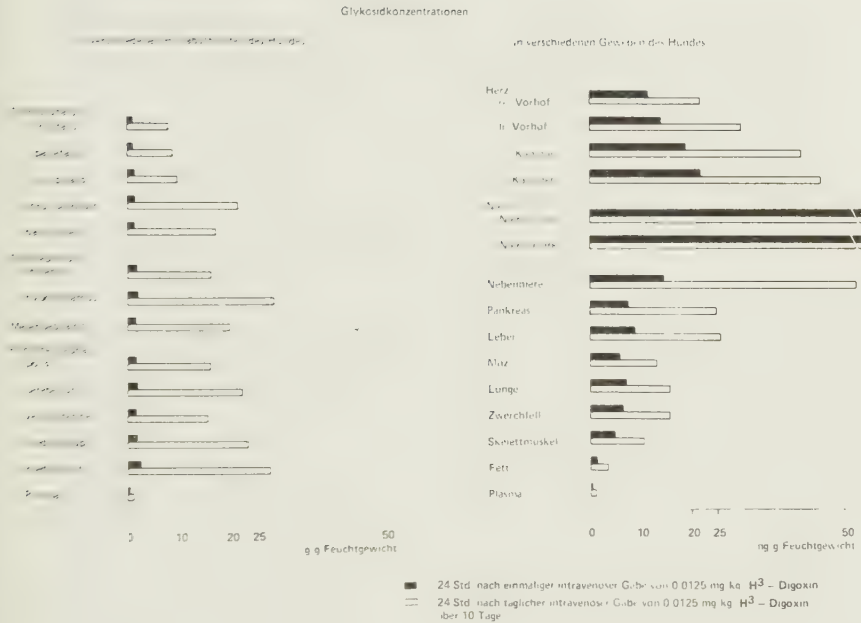


ABBILDUNG NR. 3

Glykosidkonzentrationen in verschiedenen Hirnabschnitten und Geweben von Beagle-Hunden 24 Stunden nach einmaliger (n = 2) und wiederholter (n = 2) intravenöser Applikation von 0,0125 mg/kg.

Digoxin

| Gewebe              | $C_1$ (ng/g) | $K_e$ ( $h^{-1}$ ) | $C_{10}$ (ng/g) | $R \left( \frac{C_{10}}{C_1} \right)$ | $\bar{C}$ (ng/g) | $R \left( \frac{\bar{C}}{C_1} \right)$ |
|---------------------|--------------|--------------------|-----------------|---------------------------------------|------------------|----------------------------------------|
| Nierenrinde         | 128,5        | 0,0352             | 348,5           | 2,7                                   | 225,3            | 1,8                                    |
| Vorhof              | 12,4         | 0,0262             | 29,6            | 2,4                                   | 26,6             | 2,1                                    |
| Kammer              | 20,0         | 0,0264             | 46,3            | 2,3                                   | 42,6             | 2,1                                    |
| Nebenniere          | 14,3         | 0,0267             | 37,4            | 2,6                                   | 30,2             | 2,1                                    |
| Pankreas            | 7,4          | 0,0246             | 29,5            | 4,0                                   | 16,6             | 2,3                                    |
| Leber               | 8,7          | 0,0205             | 27,0            | 3,1                                   | 22,4             | 2,6                                    |
| Milz                | 5,8          | 0,0156             | 12,4            | 2,1                                   | 18,6             | 3,2                                    |
| Lunge               | 7,0          | 0,0185             | 17,6            | 2,5                                   | 19,5             | 2,7                                    |
| Skelettmuskel       | 4,8          | 0,0162             | 10,1            | 2,1                                   | 14,9             | 3,1                                    |
| Fettgewebe          | 1,3          | 0,0153             | 3,2             | 2,5                                   | 4,2              | 3,3                                    |
| Mittelwert $\pm$ SD |              | 0,0225             |                 | $2,6 \pm 0,6$                         |                  | $2,5 \pm 0,5$                          |
| Plasma              | 0,35         | 0,0246             | 1,16            | 3,1                                   | 0,8              | 2,2                                    |
| Telencephalon       | 1,2          | 0,0070             | 8,7             | 7,3                                   | 7,8              | 6,5                                    |
| Thalamus            | 1,2          | 0,0102             | 16,2            | 13,5                                  | 5,5              | 4,6                                    |
| Hypothalamus        | 2,0          | 0,0110             | 28,3            | 14,1                                  | 8,6              | 4,3                                    |
| Mesencephalon       | 1,5          | 0,0091             | 20,1            | 13,4                                  | 7,6              | 5,1                                    |
| Pons                | 1,6          | 0,0100             | 16,1            | 10,1                                  | 7,5              | 4,7                                    |
| Cerebellum          | 2,0          | 0,0083             | 22,3            | 11,2                                  | 11,0             | 5,5                                    |
| Medulla             | 2,5          | 0,0130             | 28,7            | 11,5                                  | 9,3              | 3,7                                    |
| Mittelwert $\pm$ SD |              | 0,0098             |                 | $11,6 \pm 2,4$                        |                  | $4,9 \pm 0,9$                          |

TABELLE NR. 4

Kumulation von Digoxin in den Geweben und Hirnarealen des Beagle-Hundes nach einmaliger ( $C_1$ ) und zehnmaliger ( $C_{10}$ ) intravenöser Gabe von 0,0125 mg  $H^3$ -Digoxin pro kg Körpergewicht.

$R = \frac{C_{10}}{C_1}$  experimentell ermittelt,  $\bar{C}$  mit Hilfe von  $C_1$  und  $k_e$  berechnet.  $K_e$  wurde mit der GAUSSCHEN Methode der kleinsten Fehlerquadrate aus dem Konzentrationsabfall 24 bis 144 Stunden nach Absetzen der Digoxinmediation bestimmt.

Übereinstimmung. Der experimentell gewonnene Kumulationsfaktor liegt mehr als doppelt so hoch, wie der errechnete (Tab. Nr. 4). Für das Gehirn scheint die oben getroffene Annahme bei Gabe von Digoxin nicht gültig zu sein.

#### 4.6 Gewebe-Plasma-Quotient nach einmaliger und zehnmaliger Applikation von Digoxin

Der Gewebe-Plasma-Quotient jeweils 24 Stunden nach einmaliger und zehnmaliger intravenöser Applikation von Digoxin wird in Abbildung Nr. 4 als Säulendiagramm dargestellt.

TABELLE NR. 12

| Gewebe        | einmalige- | zehnmalige- | Applikation<br>$C_{10} : C_1$ |
|---------------|------------|-------------|-------------------------------|
| Vorhof        | 33,5       | 25,4        | 0,76                          |
| Kammer        | 57,3       | 39,9        | 0,7                           |
| Nierenrinde   | 367,0      | 299,2       | 0,8                           |
| Nebeniere     | 41,1       | 32,1        | 0,78                          |
| Leber         | 24,9       | 23,2        | 0,9                           |
| Lunge         | 19,9       | 15,2        | 0,76                          |
| Milz          | 16,6       | 10,7        | 0,65                          |
| Pankreas      | 21,2       | 25,5        | 1,2                           |
| Fettgewebe    | 2,9        | 2,4         | 0,8                           |
| Skelettmuskel | 13,7       | 8,7         | 0,64                          |
| Telencephalon | 3,3        | 7,5         | 2,3                           |
| Hypothalamus  | 5,7        | 24,4        | 4,3                           |
| Thalamus      | 3,4        | 14,0        | 4,1                           |
| Mesencephalon | 4,3        | 17,3        | 4,0                           |
| Pons          | 4,6        | 13,9        | 3,0                           |
| Cerebellum    | 5,6        | 19,2        | 3,4                           |
| Medulla       | 7,1        | 24,9        | 3,5                           |
| Hypophyse     | 74,5       | 63,0        | 0,85                          |



ABBILDUNG NR. 4

Gewebe-Plasma-Quotient nach einmaliger (n = 2) und zehnmahliger (n = 2) Gabe von 0,0125 mg  $H^3$ -Digoxin pro kg Körpergewicht.

In den Organen beträgt die Kumulation des Gewebe-Plasma-Quotienten durchschnittlich 0,8, nimmt man das Pankreas mit 1,2 aus, sogar nur 0,75. Im Gehirn findet sich ein Kumulationsfaktor von 3,5, die Hypophyse mit 0,85 angenommen. Dabei weist das Diencephalon mit 4,2 den größten Faktor auf; gefolgt vom Mesencephalon mit 4,0. Den niedrigsten Kumulationsfaktor des Gehirns mit 2,3 weist das Telencephalon auf, das damit aber die Organe immer noch um das 3fache übertrifft. Der mittlere Kumulationsfaktor des Gehirns beträgt das 3,7fache des durchschnittlichen Kumulationsfaktors der anderen Organe des Hundes.

#### 4.7 Abfall der Digoxinspiegel im Plasma und im Gewebe nach zehnmaliger täglicher intravenöser Applikation von 0,0125 mg/kg Körpergewicht Digoxin

Die gemessene Elimination von Digoxin aus den Geweben ist in Abbildung 6 und Abbildung Nr. 7 dargestellt. Den errechneten Halbwertzeiten der Gewebe in Tabelle Nr. 7 wurden die gemessenen Werte von 24 bis 144 Stunden nach letzter Digoxingabe zugrundegelegt (siehe Tabelle Nr. 9 und Nr. 10), den Halbwertzeiten für den Plasmaabfall die Werte von 24 bis 72 Stunden. Die errechnete mittlere Halbwertzeit für den Plasmaabfall von 24 bis 72 Stunden nach letzter Digoxingabe beträgt 28,2 h. Die einzelnen Ergebnisse zeigt die Tabelle Nr. 1. In Tabelle Nr. 5 und Abbildung Nr. 5 ist der Plasmaspiegelabfall in den ersten 24 Stunden nach zehnmaliger Digoxingabe festgehalten. Das Gehirn zeigt eine mittlere Halbwertzeit von 73,3 Stunden, die mittlere Halbwertzeit der restlichen Organe beträgt nur 45 % davon, nämlich 33 Stunden, während die Halbwertzeit des Plasmas mit 28,2 Stunden noch um fast 5 Stunden niedriger liegt.

Betrachtet man die Hirnteile im einzelnen, so zeigt das Telencephalon mit 99,2 Stunden die längste Halbwertszeit. Diese ist genau dreimal so lang, wie die mittlere Halbwertszeit der Organe, das Gehirn ausgenommen. Eine fast doppelt so lange Halbwertszeit, wie die Organe, hat das Diencephalon mit 65,5 Stunden, wenn man die Hypophyse mit ihrer Halbwertszeit von 25,2 Stunden nicht mit einbezieht. Das Mesencephalon besitzt eine Halbwertszeit von 76,2 Stunden, dies sind 77 % des Telencephalons. Vergleicht man aber diese Zeit mit der durchschnittlichen Halbwertszeit in den einzelnen Organen - das Gehirn ausgenommen - so beträgt deren Mittelwert nur etwa 43 % der Halbwertszeit im Mesencephalon. Das Rhombencephalon entspricht mit seiner Halbwertszeit von 68,9 Stunden in etwa der des Diencephalons. Der Mittelwert des Gehirns setzt sich hauptsächlich aus den Halbwertszeiten zweier Gruppen von Hirnteilen zusammen: Einmal das Telencephalon mit einer mittleren Halbwertszeit von 99,2 Stunden, zum anderen die restlichen Hirnteile mit einer mittleren Halbwertszeit von 69 Stunden.

Ebenso setzt sich die mittlere Halbwertszeit der übrigen Gewebe aus zwei größeren Gruppen zusammen, einmal die Organe, deren Halbwertszeit in etwa der des Herzens mit 26,4 Stunden entsprechen, dies sind 27 % der Halbwertszeit des Telencephalons, zum anderen die, deren Halbwertszeiten in der Nähe der des Skelettmuskels mit 42,7 Stunden liegen. Zur ersten Gruppe gehören im einzelnen die Nierenrinde, sie hat mit 19,7 Stunden die kürzeste errechnete Halbwertszeit überhaupt - dies sind 46 % der Halbwertszeit im Skelettmuskel und knapp 27 % der mittleren Halbwertszeit im Gehirn - im weiteren die Nebenniere mit 25,9 Stunden und das Pankreas mit 28,2 Stunden. Zur zweiten Gruppe gehören die Milz mit einer Halbwertszeit von 44,5 Stunden, die Lunge mit 37,5 Stunden und das Fettgewebe mit 45,2 Stunden.

Die mittlere Halbwertszeit der ersten Gruppe beträgt 25 Stunden, die der zweiten Gruppe 42,5 Stunden; zwischen beiden Gruppen von Halbwertszeiten, fast genau in der Mitte, liegt die Leber mit 33,8 Stunden.

TABELLE NR. 8

| Organ         | % KG | 10.Tag<br>(ng) | 11.Tag<br>(ng) | 12.Tag<br>(ng) | 15.Tag<br>(ng) |
|---------------|------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Herz          | 1    | 7              | 2,5            | 1,1            | 0,25           |
| Leber         | 4    | 16,3           | 6,9            | 5,6            | 1,1            |
| Nieren        | 0,5  | 22,5           | 8,5            | 3,0            | 0,27           |
| Lunge         | 1    | 2,6            | 1,2            | 0,65           | 0,19           |
| Milz          | 0,4  | 0,7            | 0,35           | 0,25           | 0,08           |
| Pankreas      | 0,2  | 0,9            | 0,31           | 0,17           | 0,05           |
| Skelettmuskel | 40   | 60,3           | 35,0           | 28,8           | 2,8            |
| Fettgewebe    | 20   | 8,4            | 2,9            | 1,4            | 0,75           |
| Gehirn        | 1    | 1,3            | 0,87           | 1,0            | 0,51           |

Tabelle Nr. 8: Glykosidgehalt in ng/Organ 24, 48, 72 und 144 Stunden nach zehnmaliger intravenöser Gabe von Digoxin.  
Die angegebenen Organgewichte in % des Körpergewichtes (KG) wurden für ein Körpergewicht von 15 kg berechnet.

Die Bedeutung der Halbwertszeiten für den Gesamtbestand an Glykosid im Körper ergibt sich auch aus den unterschiedlichen Glykosidmengen in den einzelnen Geweben.

Tabelle Nr. 8 zeigt, daß am 10. Tag der Skelettmuskel genau so viel Digoxin bindet, wie alle anderen Gewebe zusammen. 24 Stunden später jedoch binden alle übrigen Gewebe nur noch 67 % der Glykosidmenge des Skelettmuskels, um weitere 24 Stunden später nur noch 46 % aufzuweisen.

TABELLE NR. 5

| Hunde-Nr. | Zeit nach Digoxin-Applikation |      |      |      |      |      |      |      |      |  |
|-----------|-------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|--|
|           | 1 h                           | 2 h  | 4 h  | 6 h  | 8 h  | 12 h | 24 h | 30 h | 48 h |  |
| 4         | 2,54                          | 2,15 | 1,84 | 1,45 | 1,26 | -    | 0,37 | -    | -    |  |
| 5         | 3,05                          | 2,20 | 1,98 | 1,39 | 1,15 | -    | 0,33 | -    | -    |  |
| MW        | 3,3                           | 2,2  | 1,9  | 1,4  | 1,2  | -    | 0,35 | -    | -    |  |

Glykosidkonzentration im Plasma in ng/ml nach einmaliger i.v. Gabe von  
0,0125 mg pro kg Körpergewicht  $H^3$ -Digoxin.

TABELLE NR. 6

| Hunde-Nr. | Zeit nach Digoxin-Applikation |      |     |      |      |      |      |      |      |  |
|-----------|-------------------------------|------|-----|------|------|------|------|------|------|--|
|           | 1 h                           | 2 h  | 4 h | 6 h  | 8 h  | 12 h | 24 h | 30 h | 48 h |  |
| 8         | 3,5                           | 2,25 | 2,2 | 1,68 | 1,4  | 1,2  | 1,0  | -    | 0,62 |  |
| 7         | -                             | 2,8  | 2,6 | 2,56 | 2,47 | 2,2  | 1,2  | 0,94 | 0,56 |  |
| MW        | 3,5                           | 2,5  | 2,4 | 2,1  | 1,9  | 1,7  | 1,1  | 0,94 | 0,59 |  |

Glykosidkonzentration im Plasma in ng/ml nach zehnmaliger i.v. Gabe von  
0,0125 mg pro kg Körpergewicht  $H^3$ -Digoxin.

Digoxin

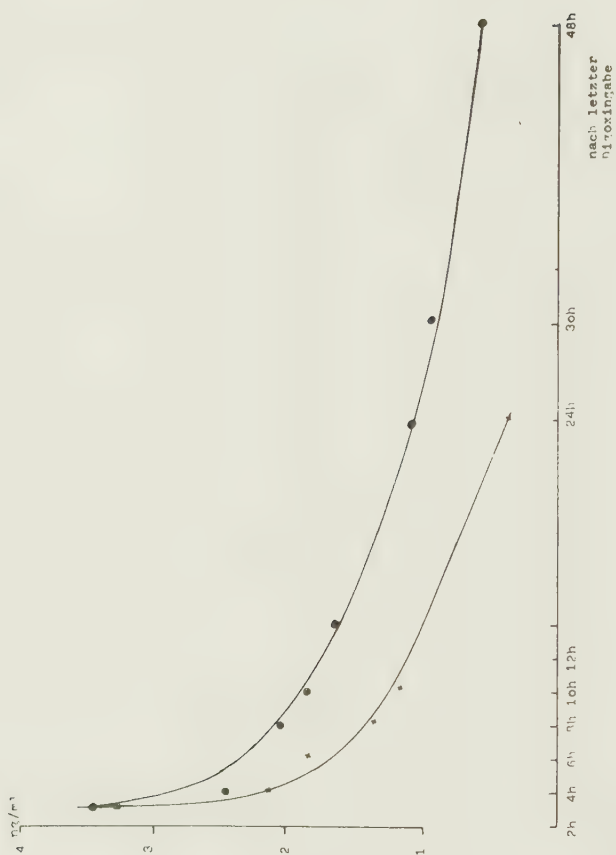
| Organ               | Konzentration ng/g<br>Regressionsgleichung | Korrelations-<br>koeffizient | t <sub>1/2</sub> (h) |
|---------------------|--------------------------------------------|------------------------------|----------------------|
| Vorhof              | $\log y = 3,18807 - 0,02618 x$             | $r = -0,95778$               | 26,5                 |
| Kammer              | $\log y = 4,11342 - 0,02638 x$             | $r = -0,97576$               | 26,3                 |
| Nierenrinde         | $\log y = 6,60416 - 0,03520 x$             | $r = -0,99403$               | 19,7                 |
| Nebenniere          | $\log y = 4,18095 - 0,02674 x$             | $r = 0,98886$                | 25,9                 |
| Pankreas            | $\log y = 3,62870 - 0,02455 x$             | $r = -0,96241$               | 28,2                 |
| Leber               | $\log y = 3,51641 - 0,02053 x$             | $r = -0,95857$               | 33,8                 |
| Milz                | $\log y = 2,64174 - 0,01556 x$             | $r = -0,88337$               | 44,5                 |
| Lunge               | $\log y = 3,02570 - 0,01850 x$             | $r = -0,90235$               | 37,5                 |
| Skelettmuskel       | $\log y = 2,69907 - 0,01623 x$             | $r = -0,87885$               | 42,7                 |
| Fettgewebe          | $\log y = 3,15312 - 0,01533 x$             | $r = -0,76169$               | 45,2                 |
| Mittelwert $\pm$ SD | $\log y = 3,67513 - 0,02252 x$             | $r = -0,92637$               | $33,0 \pm 9$         |
| Plasma (24-72 h)    | $\log y = 3,00129 - 0,02460 x$             | $r = -0,99778$               | 28,2                 |
| Telencephalon       | $\log y = 2,25755 - 0,00699 x$             | $r = -0,91399$               | 99,2                 |
| Thalamus            | $\log y = 2,88755 - 0,01016 x$             | $r = -0,95589$               | 68,2                 |
| Hypothalamus        | $\log y = 3,49829 - 0,01103 x$             | $r = -0,96432$               | 62,8                 |
| Mesencephalon       | $\log y = 3,07883 - 0,00910 x$             | $r = -0,94805$               | 76,2                 |
| Pons                | $\log y = 2,92865 - 0,00997 x$             | $r = -0,96688$               | 69,5                 |
| Cerebellum          | $\log y = 3,01468 - 0,00826 x$             | $r = -0,88984$               | 83,9                 |
| Medulla             | $\log y = 3,44328 - 0,01302 x$             | $r = -0,96778$               | 53,2                 |
| Mittelwert $\pm$ SD | $\log y = 3,01555 - 0,00979 x$             | $r = -0,94382$               | $73,3 \pm 15$        |
| Hypophyse           | $\log y = 4,55624 - 0,02746 x$             | $r = -0,96148$               | 25,2                 |

TABELLE NR. 7

Eliminationshalbwertszeiten ( $t_{1/2}$ ) in Plasma und Geweben von Beagle-Hunden 24 bis 144 Stunden nach Absetzen der 10tägigen intravenösen Gabe von  $H^3$ -Digoxin. Die Berechnung der Halbwertszeiten erfolgte aus dem Konzentrationsabfall mit der GAUSSCHEN Methode der kleinsten Fehlerquadrate.

$r$  = Korrelationskoeffizient

$P < 0,01$  für Fett sonst  $p < 0,001$



ABBIDLUNG NR. 5

Plasmaspiegel nach einmaliger und zehrmaliger Gabe von Digoxin

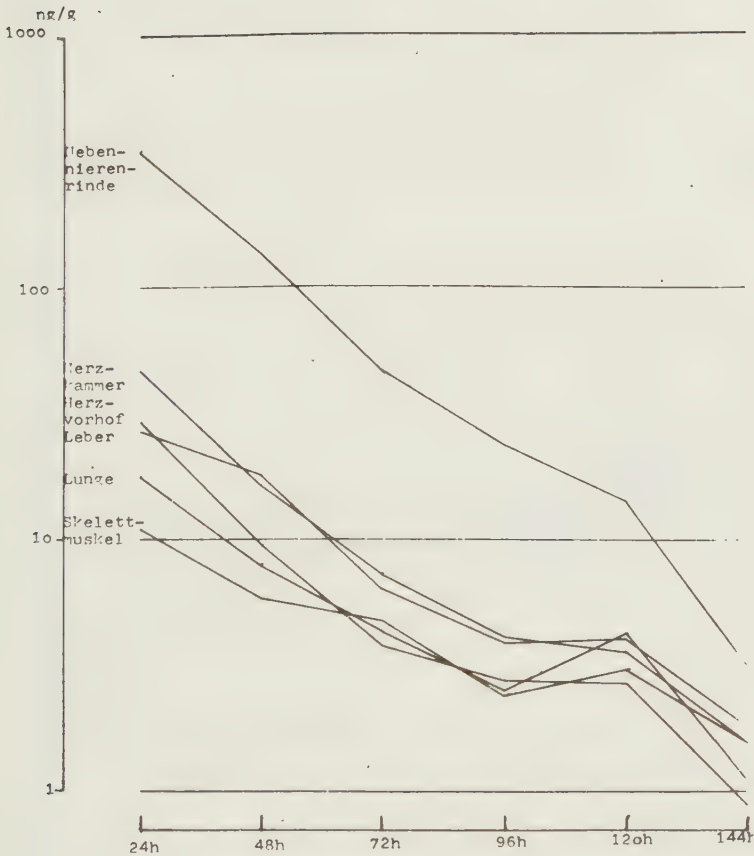


ABBILDUNG NR. 6

Glykosidkonzentrationen in Geweben des Beagle-Hundes nach Absetzen einer täglichen intravenösen Gabe von 0,0125 mg/kg  $H^3$ -Digoxin über 10 Tage (n = 11).

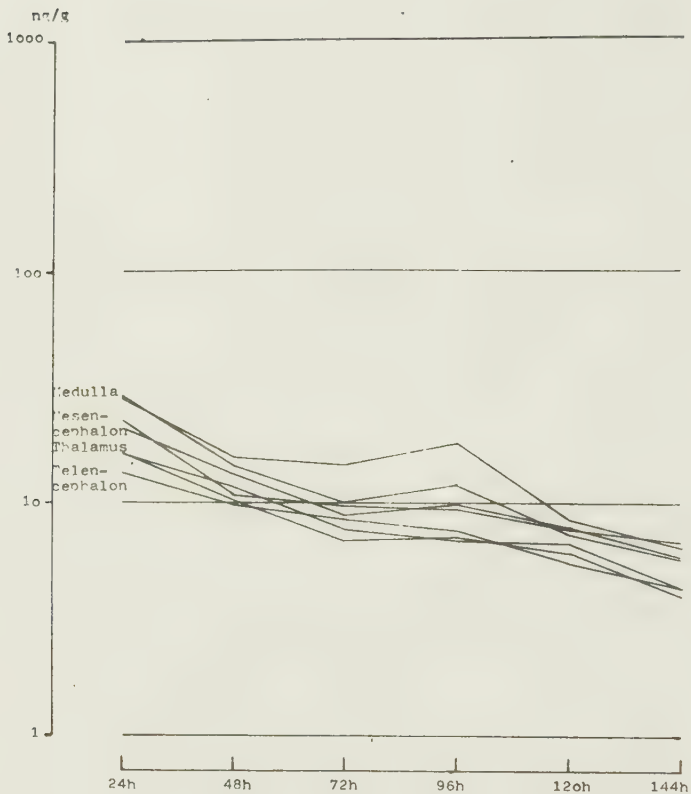


ABBILDUNG NR. 7

Glykosidkonzentrationen in Hirnarealen nach Absetzen einer täglichen intravenösen Gabe von 0,0125 mg/kg  $H^3$ -Digoxin über 10 Tage (n = 11).

#### 4.8 Renale und fäkale Ausscheidung der Gesamtradioaktivität

Abbildung Nr. 8 zeigt in Gegenüberstellung den Verlauf des Plasmaspiegels und die tägliche renale und fäkale Ausscheidung der Radioaktivität bei täglicher intravenöser Applikation von  $H^3$ -Digoxin über einen Zeitraum von 10 Tagen.

Der überwiegende Teil der applizierten Radioaktivität wird renal ausgeschieden. Das Verhältnis zwischen renaler und fäkaler Ausscheidung beträgt 1,6 : 1,0, d. h. fast 62 % der Radioaktivität werden renal ausgeschieden. Wie Abbildung Nr. 8 zeigt, stellt sich bei der Applikation von täglich 0,0125 mg/kg Körpergewicht  $H^3$ -Digoxin am 5. Tag zwischen zugeführter und ausgeschiedener Aktivität ein Gleichgewicht ein. Die Gesamtausscheidung der applizierten Radioaktivität, die bis 40 Tage nach letzter Applikation gemessen wurde, beträgt bei den Stoffwechseluntersuchungen  $102 \pm 1,3$  %.

TABELLE NR. 13

Ausscheidung in % der Gesamtdosis

| Zeit        | Urin  | Faeces | Urin +<br>Faeces | Urin<br>Faeces | t1/2 Urin<br>(h) | t 1/2<br>Faeces |
|-------------|-------|--------|------------------|----------------|------------------|-----------------|
| 01.-10. Tag | 51,65 | 31,87  | 83,45            | 1,6            | -                | -               |
| 11.-20. Tag | 9,49  | 6,42   | 15,91            | 1,5            | 28,9             | 35,5            |
| 21.-34. Tag | 0,27  | 0,17   | 0,44             | 1,6            | 135,5            | 136,5           |

Während der ersten 10 Tage, in denen täglich 0,0125 mg/kg Körpergewicht  $H^3$ -Digoxin appliziert wurde, werden 83,5 % der verabreichten Dosis ausgeschieden, und zwar 51,7 % im Urin und 31,9 % im Kot.

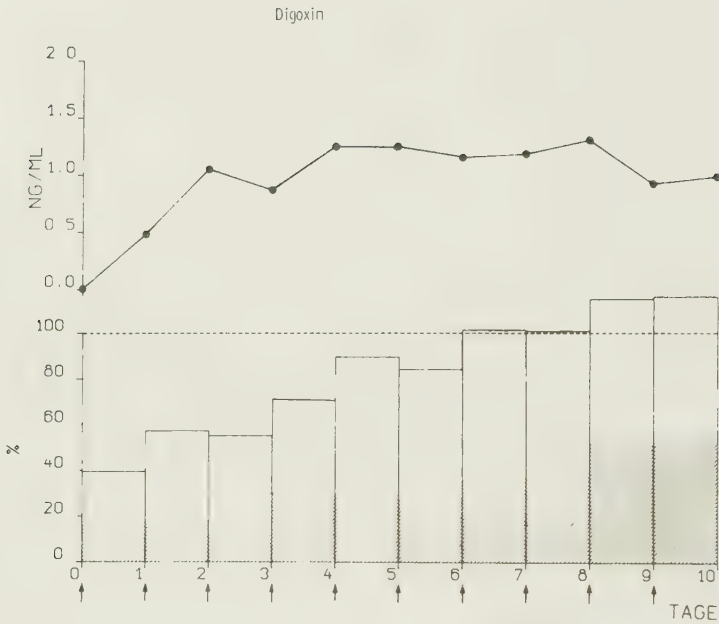


ABBILDUNG NR. 8

Gesamtradioaktivität im Plasma (ng/ml) sowie renale und fäkale  Ausscheidung (in % der täglichen applizierten Dosis) nach täglicher intravenöser Gabe von 0,0125 mg/kg  $H^3$ -Digoxin über 10 Tage bei einem weiblichen Beagle-Hund (Gewicht 15,7 kg; ↑ = Applikation).

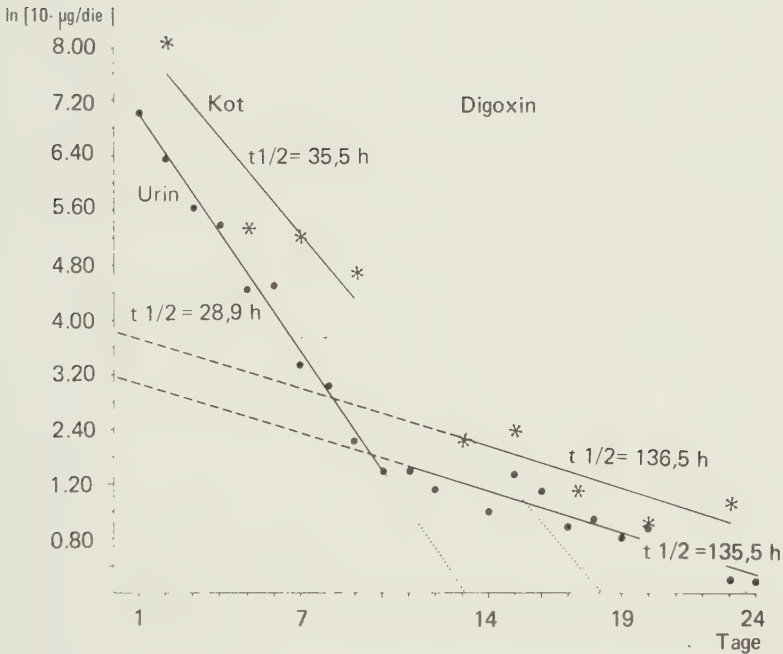


ABBILDUNG NR. 9

Post steady state Elimination von Digoxin in Urin und Kot nach täglicher Gabe von  $0,0125 \text{ mg H}^3\text{-Digoxin pro kg Körpergewicht}$  über 10 Tage bei einem weiblichen Beagle-Hund. • = Urin; \* = Faeces.

Nach der letzten Applikation verläuft die Ausscheidung, wie Abbildung Nr. 9 zeigt, über Urin und Faeces deutlich in zwei Phasen. In der ersten Phase zwischen dem 11. und 20. Tag, in der 9,5 % der Gesamtdosis über den Urin und 6,4 % über den Kot, insgesamt also 15,9 % ausgeschieden werden, beträgt die Halbwertszeit der Ausscheidung im Kot 35,5 Stunden und im Urin 28,9 Stunden. In der zweiten Phase beträgt die Ausscheidung im Urin 0,27 % der Gesamtdosis und im Kot 0,17 % bei einer Halbwertszeit von 135,5 Stunden im Urin und 136,5 Stunden im Kot. Insgesamt wurden im Kot und Urin innerhalb von 34 Tagen 99,8 % der applizierten  $H^3$ -Digoxin-Dosis ausgeschieden.

#### 4.9 Metabolite im Plasma, Geweben, Urin und Faeces

Um eine Aussage über die einzelnen Metabolite machen zu können, werden - wie oben beschrieben - durch Ausschütteln der wäßrigen radioaktiven Phasen gegen Chloroform die lipophilen von den lipophoben Anteilen getrennt.

In der nachfolgenden Tabelle sind die einzelnen chloroformlöslichen und chloroformunlöslichen Anteile der Äthanolextraktion aufgeführt.

TABELLE NR. 14

| Gewebe        | Digoxin % | Polar Matabolite % |
|---------------|-----------|--------------------|
| Gehirn        | 100       | 0                  |
| Herz          | 100       | 0                  |
| Skelettmuskel | 100       | 0                  |
| Leber         | 88        | 12                 |
| Niere         | 00        | 1                  |
| Magen         | 100       | 0                  |
| Dünndarm      | 97        | 3                  |
| Dickdarm      | 94        | 6                  |
| Plasma        | 93        | 7                  |

Hierbei zeigt sich, daß die Leber mit 12 % den größten Anteil an polaren Metaboliten aufweist, gefolgt vom Plasma mit 7 %, Dickdarm mit 6 % und Dünndarm mit 3 % polaren Metaboliten an der gesamten extrahierten Radioaktivität. Die Nieren weisen mit 1 % den geringsten Anteil polarer Metabolite auf, während bei den Extrakten von Gehirn, Herz, Skelettmuskel und Magen keine chloroformunlöslichen radioaktiven Anteile nachweisbar waren.

Die chloroformlöslichen Anteile des Äthanolextraktes der einzelnen Organe wurden - wie oben beschrieben - dünn-schichtchromatographisch untersucht. Wie Abbildung Nr. 10 zeigt, konnte hierbei nur das unveränderte Glykosid, also Digoxin, nachgewiesen werden.

Zur Trennung der chloroformlöslichen von den chloroformunlöslichen Anteilen wird bei Urin und Faeces, wie bei Plasma und den Geweben die wäßrige radioaktive Phase gegen Chloroform ausgeschüttelt.

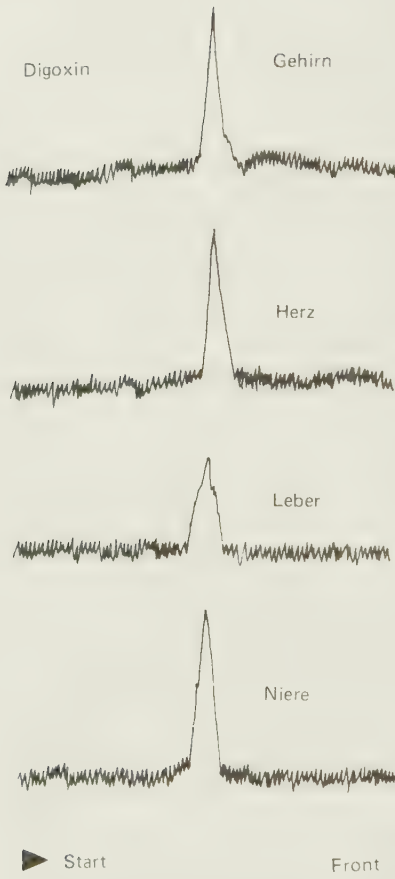


ABBILDUNG NR. 10

Dünnschichtchromatographische Auftrennung der chloroform-löslichen Fraktionen in Gehirn, Herz, Leber, Niere von Beagle-Hunden nach wiederholter intravenöser Gabe von 0,0125 mg/kg tritiummarkiertem Digoxin

In der ersten Phase der Ausscheidung, nach Erreichen des "steady states" und bis zum 10. Tag nach Absetzen der täglichen Applikation, beträgt der Anteil an polaren Metaboliten nahezu konstant im Urin 29 % und im Faeces 11 %. In der zweiten Phase vom 21. bis 24. Tag steigt der Anteil der chloroformunlöslichen Fraktion im Urin bis auf 55 % an, während er im Kot auf 4 % sinkt.

Bei der chromatographischen Auftrennung der chloroform-löslichen Metabolite können, wie Abbildung Nr. 11 zeigt, keine zuckerärmeren Glykoside nachgewiesen werden.

Zur Identifizierung der renal und fäkal ausgeschiedenen chloroformunlöslichen Metabolite wurden die während des 7. bis 10. Tages nach Beginn der Glykosidgabe gesammelten Urin- und Kotportionen jeweils vereinigt und entsprechend dem in der Methodik beschriebenen Verfahren aufgearbeitet. Der gesamte polare Anteil des Urins und des Kotes läßt sich in 3 getrennte Fraktionen von der Aluminiumoxydsäule eluieren, von denen die 1. Fraktion nicht konjugierte Metabolite, die 2. Fraktion Schwefelsäurekonjugate und die 3. Glucuronsäurekonjugate enthalten sollen (BARLOW und KELLIE, 1959; SCHUBERT und HOBE, 1961; HERRMANN und REPKE, 1964). Durch die Inkubation der vermeintlichen "Sulfatfraktion" und "Glucoronidfraktion" mit Arylsulfatase bzw. Glucoronidase konnte diese Annahme jedoch nicht bestätigt werden.

Man erkennt aus Tabelle Nr. 11, daß die gespaltenen chloroformlöslichen Anteile aller 3 Fraktionen in den Kontrollansätzen ohne Enzymzusatz nahezu identisch sind mit denen nach Inkubation mit Arylsulfatase bzw.  $\beta$ -Glucoronidase. Durch anschließende Inkubation der ungespaltenen Anteile bei pH1 kann von der 3. Fraktion noch ein erheblicher Anteil hydrolysiert werden, so daß

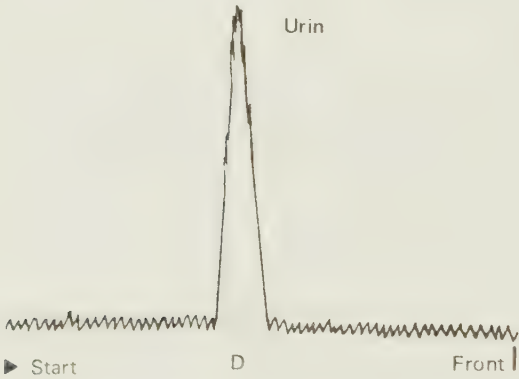
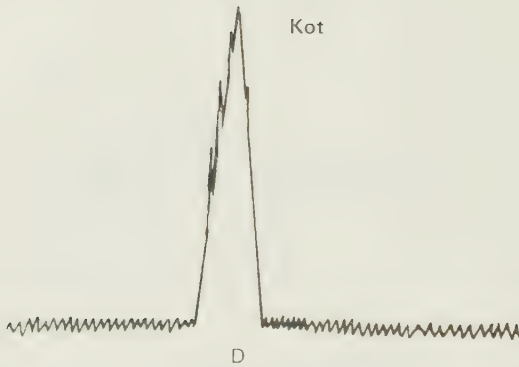


ABBILDUNG NR. 11

Dünnschichtchromatographische Auftrennung der chloroform-löslichen Fraktionen in Urin und Kot von Beagle-Hunden nach wiederholter intravenöser Gabe von 0,0125 mg/kg tritiummarkiertem Digoxin

TABELLE NR. 11

| Urin                      | 1. Fraktion       |      |      | 2. Fraktion      |      |      | 3. Fraktion       |      |      |
|---------------------------|-------------------|------|------|------------------|------|------|-------------------|------|------|
|                           | 11,2 % des Eluats |      |      | 2,6 % des Eluats |      |      | 86,2 % des Eluats |      |      |
|                           | L                 | S    | G    | L                | S    | G    | L                 | S    | G    |
| % enzymatisch gespalten   | 55,0              | 63,8 | 51,4 | 49,2             | 67,1 | 46,8 | 39,9              | 51,3 | 40,2 |
| % säurehydrolytisch gesp. | 7,0               | 2,7  | 8,8  | 13,2             | 2,3  | 16,0 | 44,3              | 34,2 | 47,3 |
| Gesamtsumme               | 62,0              | 66,5 | 60,2 | 62,4             | 69,4 | 62,8 | 84,2              | 85,5 | 87,5 |

| Kot                       | 5,5 % des Eluats |    |      | 3,5 % des Eluats |      |      | 91 % des Eluats |      |      |
|---------------------------|------------------|----|------|------------------|------|------|-----------------|------|------|
|                           | L                | S* | G    | L                | S    | G    | L               | S    | G    |
|                           |                  |    |      |                  |      |      |                 |      |      |
| %enzymatisch gespalten    | 46,1             | -  | 35,4 | 44,6             | 65,2 | 21,8 | 25,5            | 21,5 | 17,7 |
| % säurehydrolytisch gesp. | 20,8             | -  | 16,2 | 19,7             | 10,2 | 24,0 | 65,4            | 72,8 | 74,5 |
| Gesamtsumme               | 86,9             | -  | 61,6 | 64,3             | 75,4 | 5,8  | 90,9            | 94,3 | 92,2 |

\* Fraktion ging verloren

Tabelle Nr. 11: Spaltung der drei von der Aluminiumoxydsäule eluierten Fraktionen nach 48stündiger Inkubation mit Arylsulfatase  $\beta$ -Glucoronidase sowie anschließender 24stündiger Inkubation bei pH 1. L = Kontrollansatz ohne Enzym, S = Zusatz von Sulfatase, G = Zusatz von Glucoronidase. Angegeben ist der Prozentsatz der  $\text{CHCl}_3$ -löslichen Fraktion nach der Inkubation.

von dieser Fraktion, die den Hauptanteil des gesamten Eluats ausmacht, durchschnittlich 90 % nach der insgesamt 72 stündigen Inkubation mit Chloroform extrahierbar ist. Bei den anschließenden dünnschichtchromatographischen Analysen der lipophilen Spaltprodukte erweist sich die unveränderte Ausgangssubstanz Digoxin als Hauptkonjugationspartner. Zuckerärmere Glykoside können nur in den gespaltenen Urinfraktionen zu einem geringeren Prozentsatz entdeckt werden.

TABELLE NR. 9

| Hunde-Nr.                | 1                | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    | 10   | 11  |
|--------------------------|------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----|
| Anzahl der Applikationen | 1                | 1    | 10   | 10   | 10   | 10   | 10   | 10   | 10   | 10   | 10  |
| Zeit nach letzter Gabe   | 24               | 24   | 24   | 24   | 48   | 48   | 72   | 96   | 96   | 120  | 144 |
| GEWEBE                   | ng/Feuchtgewicht |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |
| TELENCEPHALON            |                  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |
| L. frontalis             | 1,3              | 1,0  | 7,9  | 7,7  | 7,1  | 3,6  | 6,6  | 4,2  | 3,8  | 4,6  | 3,1 |
| L. parietalis            | 1,2              | 1,5  | 9,5  | 9,6  | 8,0  | 4,6  | 6,2  | 3,9  | 3,9  | 4,8  | 3,7 |
| L. occipitalis           | 1,1              | 1,0  | 7,9  | 9,4  | 8,0  | 3,7  | 7,2  | 4,0  | 4,7  | 4,7  | 3,0 |
| Corp. callosum           | 1,6              | 1,3  | 18,1 | 24,6 | 11,7 | 10,1 | 7,5  | 7,5  | -    | 3,6  | 5,8 |
| Pars nuclej              | 1,4              | 1,1  | 14,9 | 19,3 | 14,8 | 6,9  | 10,6 | 7,1  | -    | 4,6  | 1,3 |
| Hippocampus              | 1,8              | -    | 21,0 | 12,4 | 15,5 | 24,3 | 12,9 | 11,2 | 25,8 | 10,7 | 9,0 |
| DIENCEPHALON             |                  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |
| Hypophyse                | 26,2             | 25,8 | -    | 74,3 | 22,7 | -    | 10,2 | 4,1  | -    | 4,3  | 2,7 |
| Hypothalamus             | 2,3              | 1,7  | 32,7 | 23,8 | 16,1 | 15,7 | 14,6 | 13,9 | 21,0 | 8,5  | 6,5 |
| Thalamus                 | 1,2              | 1,2  | 18,6 | 13,8 | 10,7 | 9,8  | 6,9  | 7,1  | 21,0 | 6,1  | 4,0 |
| MESENCEPHALON            |                  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |
| 1,5                      | 1,5              | 1,5  | 20,9 | 19,3 | 12,4 | 14,0 | 8,9  | 7,6  | 12,2 | 7,9  | 5,8 |
| ROMBENCEPHALON           |                  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |
| Pons                     | 1,7              | 1,5  | 17,4 | 14,7 | 11,0 | 12,1 | 7,7  | 6,8  | 13,0 | 6,7  | 4,3 |
| Cerebellum               | 2,1              | 1,8  | 22,4 | 22,1 | 10,5 | 10,8 | 9,6  | 6,9  | 11,9 | 7,7  | 6,8 |
| Vermis cerebelli         | 1,7              | 1,5  | 14,6 | 15,4 | 10,3 | 10,3 | 8,9  | 6,6  | 10,2 | 7,1  | 6,0 |
| Medulla                  | 2,9              | 2,1  | 36,7 | 20,7 | 12,9 | 15,6 | 10,0 | 8,3  | 15,6 | 7,3  | 5,6 |
| RÜCKENMARK               | 1,5              | 1,7  | 17,4 | 15,2 | 10,3 | 11,6 | 7,3  | 6,8  | 11,3 | 5,6  | 4,6 |
| PLASMA                   | 0,37             | 0,33 | 1,14 | 1,18 | 0,56 | 0,42 | 0,35 | -    | -    | -    | -   |

Gewebekonzentration von Digoxin in ng/g Feuchtgewicht nach ein- bzw. zehnmaliger i.v. Gabe von 0,0125 mg pro kg Körpergewicht H<sup>3</sup>-Digoxin

TABELLE NR. 10

| Hunde-Nr.                         | 1                  | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7    | 8    | 9    | 10   | 11  |
|-----------------------------------|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|------|------|------|------|-----|
| Anzahl der Applikationen          | 1                  | 1     | 10    | 10    | 10    | 10    | 10   | 10   | 10   | 10   | 10  |
| Zeit nach letzter Gabe in Stunden | 24                 | 24    | 24    | 24    | 48    | 48    | 72   | 96   | 96   | 120  | 144 |
| GEWEBE                            | ng/g Feuchtgewicht |       |       |       |       |       |      |      |      |      |     |
| HERZ                              |                    |       |       |       |       |       |      |      |      |      |     |
| re. Vorhof                        | 9,9                | 12,4  | 25,7  | 28,3  | 10,1  | 8,5   | 3,4  | 2,6  | 2,1  | 2,4  | 0,8 |
| li. Vorhof                        | 12,0               | 15,3  | 27,5  | 36,7  | 10,3  | 9,2   | 4,1  | 3,0  | 2,2  | 2,9  | 0,9 |
| re. Vorhof                        | 18,0               | 18,8  | 42,5  | 45,2  | 16,0  | 15,2  | 6,7  | 4,1  | 3,3  | 3,4  | 1,5 |
| li. Kammer                        | 20,8               | 22,2  | 43,1  | 54,4  | 17,5  | 16,5  | 7,4  | 4,2  | 3,9  | 3,7  | 1,6 |
| NIERE                             |                    |       |       |       |       |       |      |      |      |      |     |
| Rinde                             | 116,5              | 140,5 | 262,0 | 435,0 | 104,9 | 169,4 | 46,9 | 19,2 | 28,2 | 14,3 | 4,2 |
| Mark                              | 31,3               | 107,1 | 172,3 | 121,0 | 32,1  | 37,6  | 19,2 | 14,2 | 7,6  | 7,0  | 1,9 |
| NEBENNIERE                        |                    |       |       |       |       |       |      |      |      |      |     |
| LEBER                             | 12,5               | 16,0  | 29,1  | 45,7  | 20,9  | 17,6  | 7,6  | 5,1  | 3,7  | 3,5  | 1,3 |
| LUNGE                             | 9,2                | 8,2   | 23,1  | 30,9  | 14,0  | 9,2   | 6,3  | 3,9  | 2,6  | 4,1  | 1,8 |
| MILZ                              | 7,3                | 6,6   | 15,6  | 19,6  | 9,0   | 6,4   | 4,3  | 2,5  | 1,8  | 4,2  | 1,3 |
| PANKREAS                          | 5,9                | 5,7   | 9,7   | 15,1  | 7,6   | 4,3   | 4,1  | 2,5  | 1,2  | 3,8  | 1,4 |
| ZWERCHFELL                        | 7,4                | 7,4   | 34,2  | 24,8  | 12,6  | 8,3   | 5,4  | 3,0  | 2,3  | 1,6  | 1,7 |
| SKLETTMUSKEL                      | 6,6                | 6,0   | 17,9  | 16,1  | 8,4   | 5,3   | 5,6  | 2,2  | 1,2  | 3,8  | 1,2 |
| FEIT                              | 5,2                | 4,4   | 10,1  | 10,0  | 7,9   | 3,9   | 4,8  | 3,7  | 1,1  | 3,1  | 1,6 |
| MAGEN                             | 1,8                | 0,8   | 3,7   | 2,7   | 0,8   | 0,9   | 0,4  | 0,3  | 0,3  | 0,7  | 0,3 |
| DUNNDARM                          | 7,2                | 8,1   | -     | 22,9  | -     | 10,5  | -    | -    | 2,9  | 2,6  | 1,5 |
| DICKDARM                          | 13,3               | 13,6  | 35,1  | 77,6  | 9,8   | 11,2  | 4,3  | 3,7  | 2,6  | 3,5  | 1,6 |
| UTERUS                            | 36,3               | -     | 20,7  | 18,0  | 12,1  | 17,5  | 8,5  | -    | 3,0  | 3,2  | 1,6 |
| EILEITER                          | 7,8                | 3,4   | 7,5   | 10,9  | 8,8   | 2,8   | 3,6  | -    | 0,8  | -    | -   |
| OVAR                              | 6,8                | 3,2   | 4,9   | 19,6  | 9,4   | 2,4   | 10,0 | -    | 0,7  | -    | -   |
| HODEN                             | 6,0                | 4,3   | 5,8   | 26,8  | 12,0  | 3,5   | 5,9  | -    | 0,8  | -    | -   |
| NEBENHODEN                        | -                  | -     | -     | -     | -     | -     | -    | 3,3  | -    | 3,5  | 1,8 |
| PLASMA (ng/ml)                    | 0,37               | 0,33  | 1,14  | 1,18  | 0,56  | 0,42  | 0,35 | 4,6  | -    | 7,5  | 3,2 |

Organkonzentrationen von Digoxin in ng/g Feuchtgewicht nach ein- bzw. zehnmaliger

## 5. DISKUSSION

### 5.1 Plasmaspiegel in Bezug zu pharmakokinetischen Aspekten von Digoxin

Für die Verteilung von Glykosiden sowie für die Elimination und damit für die pharmakologische Wirksamkeit ist neben anderen Faktoren, wie Durchblutung, Eigenschaften der Membran, Lipoidlöslichkeit und Affinität zu spezifischen und unspezifischen Rezeptoren, die aktuelle Glykosidkonzentration im Serumwasser ausschlaggebend (LÜLLMANN und Mitarbeiter, 1969 und 1971; SCHAUMANN, 1973). Diese wird von der jeweiligen Eiweißaffinität eines Glykosides bestimmt. Die Bindung der Herzglykoside an Serumproteine ist unabhängig von der Höhe des Plasmaspiegels (LUKAS und DE MARTINO, 1969). Ebenso ist keine Veränderung in der Bindung der Herzglykoside bei Variationen des pH-Wertes zwischen 6 und 9 festzustellen. Veränderungen der Bindung durch Variationen des pH-Wertes in einem noch größeren Bereich (BROCK, 1974 und 1975) haben wegen der extremen Bedingungen wahrscheinlich keine klinische Relevanz. Bei der Serum-Eiweiß-Bindung haben die Serum-Albumine die quantitativ größte Bedeutung für die Bindung der Glykoside (EVERED, 1972; FARAH, 1944; FAWAZ und FARAH, 1944; LUKAS und DE MARTINO, 1969), jedoch ist diese Bindung hinsichtlich der Gesamtmenge an aufgenommenem Herzglykosid quantitativ unbedeutend. Die relativ großen Divergenzen in der Literatur zur Serum-Proteinbindung der Herzglykoside (STORSTEIN, 1977) können zum großen Teil auf die methodischen Unterschiede der Proteinbindungsbestimmung (KRIEGLSTEIN und KUSCHINSKY, 1968; KRIEGLSTEIN, 1969) zurückgeführt werden. Die Angaben für die Digoxin-Proteinbindung schwanken zwischen 5 und 46 % (UCHIDA und Mitarbeiter, 1965; SCHOLTEN und Mitarbeiter, 1966; KUSCHINSKY, 1968, 1969; LUKAS und DE MARTINO, 1969; DOHERTY und HALL, 1971; VERNICK und Mitarbeiter, 1971).

Wegen des großen Verteilungsvolumens von Digoxin im "steady state" bleibt jedoch eine Änderung der Plasma-Eiweißbindung über einen weiten Bereich ohne bemerkbaren klinischen Effekt. Die Erniedrigung der Plasma-Eiweißbindung um 20 % würde eine Zunahme der pharmakodynamisch aktiven freien Konzentration um 2 % bewirken.

Die gemessenen therapeutischen Serumkonzentrationen von Digoxin liegen im "steady state" beim Menschen etwa im Bereich von 1,4 ng/ml (STROBACH und Mitarbeiter, 1972; LARBIG und Mitarbeiter, 1972). Dieser Befund entspricht in etwa auch dem mittleren Plasmadigoxinspiegel im "steady state" beim Beagle-Hund von 1,19 ng/ml.

Während der Blutspiegelverlauf in der Invasionsphase der Glykoside praktisch quantitativ noch nicht untersucht wurde, gibt es für die Evasionsphase der einzelnen Herzglykoside hauptsächlich nach intravenöser Applikation zahlreiche Untersuchungen, in denen meist dreifach exponentielle Kurvenverläufe beschrieben werden (DOHERTY und PERKINS, 1962; DOHERTY, 1968; DENGLER und Mitarbeiter, 1973; RENNING und Mitarbeiter, 1973; GREENBLATT und Mitarbeiter, 1974; KRAMER und Mitarbeiter, 1974; NYBERG und Mitarbeiter, 1974; SUMNER und Mitarbeiter, 1976).

Nach einem relativ raschen Konzentrationsabfall aufgrund der Durchmischung des Glykosides im zirkulierenden Blutvolumen erfolgt der Abfall der Serumspiegels mit exponentiellem Kurvenverlauf in zwei Phasen mit verschiedenen Zeitkonstanten. Die erste schnelle Phase entspricht nach DOHERTY und Mitarbeitern (1961) sowie GONZALES und LAYNE (1960) dem Übertritt vom Serum in die verschiedenen Organe. Die Halbwertszeit für Digoxin wurde mit 30 - 60 Minuten bestimmt. Diese Phase ist also als Penetrationsphase zu bezeichnen. Daß es sich hierbei um Verteilungsvorgänge

handelt, zeigen auch Untersuchungen von KELLER und Mitarbeitern (1977), die bei der Evasion aus einem Verteilungsgleichgewicht nach Mehrfachapplikation von Digoxin einen mono-exponentiellen Abfall der Serumkonzentration ergaben. Die zweite langsame Phase ist hauptsächlich durch die Ausscheidung sowie das Rückfluten von Digoxin aus den einzelnen Kompartimenten bedingt. Sie ist demnach als Eliminationsphase zu bezeichnen.

In dieser Phase zeigt Digoxin eine mittlere Halbwertszeit von 36 Stunden (HUFFMANN und AZARNOFF, 1972; SMITH und HABER, 1973; MOE und FARAH, 1975; KELLER ET AL. und Mitarbeiter, 1977). Dieser Wert stimmt auch gut mit den Untersuchungen von WEISSLER und Mitarbeitern (1968) und SHAPIRO und Mitarbeitern (1970) überein, die das Abklingen der Wirkung von Digoxin anhand der Messungen der systolischen Zeitintervalle mit 33 bzw. 29 Stunden bestimmten. In diesem Bereich lag auch bei den Untersuchungen am Beagle-Hund mit 31 Stunden die Halbwertszeit der Eliminationsphase. Kürzere Halbwertszeiten zwischen 10 und 20 Stunden (SMITH und WILLERSON, 1971; SOMOGYI und Mitarbeiter, 1972; CITRIN und Mitarbeiter, 1972; HOBSON und ZETNER, 1973) sind wahrscheinlich aufgrund der verwendeten hohen Dosis gefunden worden, da hier die Verteilungsphase länger andauert.

Bei den Untersuchungen am Beagle-Hund zeigte sich 10 Tage nach Absetzen der  $H^3$ -Digoxin-Applikation noch eine zweite Eliminationsphase, die viermal länger ist als die der ersten 10 Tage. Die  $H^3$ -Digoxinspiegel im Plasma lagen zu diesem Zeitpunkt bereits unterhalb der Nachweisgrenze. Nur durch Untersuchungen von Urin und Faeces war diese zweite Eliminationsphase nachweisbar, sie ergab die ersten Hinweise auf ein peripheres Kompartiment von Digoxin, das nach der Definition von GARRETT (1976) langsamer aufgefüllt und auch langsamer entleert wird.

## 5.2 Digoxinkonzentration im Gehirn

Verteilungsstudien im "steady state", dem Stadium des Verteilungsgleichgewichtes, wurden bislang aus methodischen Gründen nicht durchgeführt. Außer den Untersuchungen von KUHLMANN und Mitarbeitern (1976) und KUHLMANN (1978) gab es systematische Verteilungsuntersuchungen nur nach einmaliger Glykosidapplikation (BENTHE, 1975; ROESCH, KOCH, SCHAUMANN, 1973; SCHAUMANN, KOCH, 1974). Häufig ergaben sich schon deshalb unterschiedliche Ergebnisse in den einzelnen Verteilungsstudien, weil bei einmaliger Gabe die unterschiedliche Durchblutung der einzelnen Organe und Organabschnitte zum Tragen kommt (BELLER und Mitarbeiter, 1972; HOPKINS und TAYLOR, 1973; KUHLMANN und Mitarbeiter, 1975).

Außerdem wurde für zahlreiche Pharmaka eine Abhängigkeit ihrer Permeation über die Blut-Hirn-Schranke vom Grade ihrer Lipoidlöslichkeit nachgewiesen (BRODIE und Mitarbeiter 1960; OLDENDORF, 1974). Dies wurde auch für die Herzglykoside von BENTHE (1975) an der Katze bestätigt. Für Betamethyldigoxin fand er die höchste Anreicherung und dementsprechend für Strophantin die niedrigste Anreicherung. Nach WILSON und BRODIE (1961) und OLDENDORF (1974) existiert für einige Hirnabschnitte, wie Neurohypophyse, Tuber cinereum, Hypothalamus und Area postrema keine eigentliche Blut-Hirn-Schranke. Dadurch erklärt sich auch die enge Korrelation zwischen Glykosidspiegel und Erbrechen (DIETMANN und Mitarbeiter, 1978), da das Brechzentrum in der Medulla oblongata ebenfalls außerhalb der Blut-Hirn-Schranke liegt.

Die Blut-Hirn-Schranke scheint für relativ polare Glykoside ein Diffusionshindernis darzustellen. Sie ist anscheinend ursächlich für das uneinheitliche Vertei-

lungsmuster der Digoxinkonzentration im Gehirn verantwortlich (RIETBROCK und KUHLMANN, 1977; KUHLMANN, 1978). Zusätzlich könnte auch eine höhere Rezeptoraffinität zum unterschiedlichen Digoxinverteilungsmuster im Gehirn beitragen. KUHLMANN und Mitarbeiter fanden 1979 im Vergleich zum Myokard eine zehnmal höhere Aktivität der durch Herzglykoside hemmbaren ( $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ )-ATPase des Gehirns. So könnten zum uneinheitlichen Verteilungsmuster von Digoxin im Gehirn auch spezifisch gebundene Glykosidanteile einzelner Hirnareale beitragen. Diese Vermutung stützen auch Untersuchungen von LAWS und O'CONNOR (1970) und AGREN und Mitarbeitern (1971), die eine wesentlich höhere ATPase Aktivität in Meningiomen als in bösartigen Blastomen feststellten. Dementsprechend ist die Digoxinkonzentration in diesen Tumoren mit  $21,8 \pm 7,3$  ng/g Feuchtgewicht signifikant höher, als in Blastomen mit  $5,7 \pm 5,2$  ng/g Feuchtgewicht. Auch WILLIAMS und Mitarbeiter (1976) weisen in ihren Digoxinverteilungsstudien an verschiedenen Hirntumoren sowohl auf die Bedeutung der ( $\text{Na}^+$  und  $\text{K}^+$ )-ATPase, als auch der Blut-Hirn-Schranke für die Glykosidanreicherung hin. Obwohl unbestreitbar ein Zusammenhang zwischen Organkonzentration und neurotoxischer Glykosidwirkung vermutet wird, bezweifelt man eine einfache lineare Beziehung (BENTHE, 1975).

### 5.3. Glykosidkonzentration im Herzen und anderen Organen

Erfolgen die Glykosidkonzentrationsmessungen im Verteilungsgleichgewicht (steady state), so sind die durch den Grad der Hydrophilie bestimmte Verteilung im Wasserverteilungsraum, die Plasma-Eiweiß-Bindung und die Aufnahme im Gewebe als bestimmende Größe für das Verteilungsvolumen anzusehen.

Daß die therapeutische Aktivität eines Herzglykosides unter anderem von seiner Konzentration am myokardialen Rezeptor abhängt, wird allgemein nicht in Frage gestellt (CHAMBERLAIN 1973).

Doch wie beim Gehirn wird beim Herzen eine einfache lineare Beziehung zwischen der Gesamorgankonzentration und der Besetzung der Rezeptoren bezweifelt (DEUTSCHER, HARRISON und GOLDMANN, 1972; KUSCHINSKY, LÜLLMANN und VAN ZWIETEN, 1969; PFLEGER und Mitarbeiter, 1975; RIEGER und KUSCHINSKY, 1972).

Die Bedeutung der spezifischen Bindung als bestimmende Größe für das Verteilungsvolumen wurde durch Untersuchungen von ARONSON und GRAHAME-SMITH (1977) betont. Danach besteht eine deutliche Beziehung zwischen der Größe des Verteilungsvolumens, der absoluten Menge an ATPase und deren Empfindlichkeit auf Digoxin. Neben der Bindung an den Rezeptor wird im Gewebe aber auch das Vorhandensein einer nicht-spezifischen Aufnahme vermutet (LÜLLMANN und VAN ZWIETEN, 1969; DUTTA und MARKS, 1972; ERDMANN und SCHONER, 1974). Dafür sprechen auch Untersuchungen von KUSCHINSKY und Mitarbeitern (1968) nach denen Digoxin nur zu 10 % eine spezifische Bindung an Rezeptoren der Zellmembranoberfläche aufweist.

Die Aufnahme von Herzglykosiden im Gewebe verläuft exponentiell (LÜLLMANN und VAN ZWIETEN, 1969; BINNION und Mitarbeiter, 1970), wobei die Invasions-Halbwertszeit umgekehrt proportional zur Konzentration des Glykosides in der Umgebungsflüssigkeit ist (KUSCHINSKY und Mitarbeiter, 1967). 1967 fanden DOHERTY und PERKINS beim Menschen eine deutliche Anreicherung von Digoxin im Herzen. Dies steht im Gegensatz zu früheren Befunden dieser Arbeitsgruppe beim Menschen (DOHERTY und Mitarbeiter, 1961) und

beim Tier (DOHERTY UND PERKINS, 1966). Obwohl auch die Untersuchungen von OKITA (1969) dagegensprechen, ist inzwischen die Tatsache, daß das Herz gegenüber dem Skelettmuskel höhere Digoxinkonzentrationen aufweist, nach den Untersuchungen beim Menschen durch COLTART und Mitarbeiter (1972) sowie COLTART (1973) und beim Hund durch DEUTSCHER und Mitarbeiter (1972) unbestritten. Auch in der vorliegenden Arbeit fanden sich höhere Digoxinkonzentrationen nur noch in der Niere. Diese Befunde gelten nach SCHAUMANN (1973) zwar für den Herzmuskel des Menschen und des Hundes, nicht aber für Ratten und Meerschweinchen.

Das Ausmaß dieser Anreicherung wurde für Digoxin hinsichtlich der Beziehung zwischen Serumkonzentrationen und Gewebekonzentrationen besonders untersucht (DOHERTY und PERKINS, 1966; DOHERTY und Mitarbeiter, 1967; BINNION und Mitarbeiter, 1969; COLTART und Mitarbeiter, 1972; CAROLL und Mitarbeiter, 1973; GÜLLNER und Mitarbeiter, 1974; KARJALAINEN und Mitarbeiter, 1974; SELDEN UND NEILL, 1975; HAASIS und Mitarbeiter, 1977).

Bei den Untersuchungsergebnissen zeigen sich enorme Differenzen. Aufgrund dieser Ergebnisse wird in der Literatur die Korrelation zwischen Serumkonzentration und Gewebekonzentration sowohl negativ (DOHERTY und Mitarbeiter, 1967; BINNION und Mitarbeiter, 1969; COLTART und Mitarbeiter, 1972; COLTART und Mitarbeiter, 1974), als auch positiv beantwortet (GÜLLNER und Mitarbeiter, 1974; KARJALAINEN und Mitarbeiter, 1974; HARTEL und Mitarbeiter 1976; HAASIS und Mitarbeiter, 1977). Eine mögliche Erklärung für die starken Schwankungen sind nicht immer einheitliche Versuchsbedingungen. Oft wurde bei den Messungen im Autopsiematerial die vor dem Tod eintretende Verminderung der Ausscheidungsfunktion nicht beachtet. Durch JUSKO und WEINTRAUB (1975) wurde eine gute

Korrelation zwischen dem Serum-/Gewebe-Quotienten und der ante mortem gemessenen Kreatinin-Clearenz festgestellt. Sie folgerten daraus, daß Differenzen in der Kreatinin-Clearenz und im Verteilungsvolumen für die unterschiedliche Glykosidaufnahme im Gewebe verantwortlich sein könnten. Auch ein lokal vorliegender Kalium-Mangel stimuliert die Glykosidaufnahme im Gewebe (DUTTA und MARKS, 1969; GOLDSMITH und Mitarbeiter, 1969; PRINDLE und Mitarbeiter, 1969 und 1971).

Besonderes Interesse der Untersucher fand die unterschiedliche Verteilung von Herzglykosiden auf die einzelnen Herzabschnitte (MORGAN und BINNION, 1970; DEUTSCHER und Mitarbeiter, 1972; HOBKINS und TAYLOR, 1973; KARJALAINEN und Mitarbeiter, 1974; KUHLMANN und Mitarbeiter, 1975; LLOYD und TAYLOR, 1975; STEINESS und VALENTIN, 1976; HAASIS und Mitarbeiter, 1977; MALCOME und COLTART, 1977). So fanden sich auch in den einzelnen Herzabschnitten des Beagle-Hundes unterschiedliche Glykosidkonzentrationen (KUHLMANN, 1975). Der höchste Glykosidgehalt findet sich im linken Ventrikel, gefolgt von der rechten Kammer, dem linken Vorhof und dem rechten Vorhof. Dieses Verteilungsmuster scheint für Digoxin auch beim Menschen charakteristisch zu sein (BRISSE und Mitarbeiter, 1977). Als Ursache für die unterschiedliche Verteilung der Glykoside im Herzen werden Unterschiede in der Blutverteilung vermutet (BELLER, 1972; HOPKINS und TAYLOR, 1973; KUHLMANN und Mitarbeiter, 1975; LLOYD und TAYLOR, 1975). Der Blutfluß pro Gewichtseinheit ist im linken Ventrikel um etwa 50 % höher, als im rechten und in den Vorhöfen (GRUBER und Mitarbeiter, 1967; DOMENECH und Mitarbeiter, 1969; FORTUIN und Mitarbeiter, 1971).

Es konnte jedoch bisher nur bei Senkung der Koronardurchblutung ein Einfluß auf die Digoxinverteilung festge-

stellt werden (BELLER und Mitarbeiter, 1972; HOPKINS und Mitarbeiter, 1973; LLOYD und TAYLOR, 1975), während eine Steigerung ohne Einfluß blieb (LLOYD und TAYLOR, 1976). Der spezifische Rezeptor scheint keinen Einfluß auf die Verteilung zu haben. Es finden sich in den einzelnen Herzabschnitten keine ausgeprägten Verteilungsunterschiede der ( $\text{Na}^+$  und  $\text{K}^+$ )-ATPase-Aktivität (KUHLMANN und Mitarbeiter, 1979).

LARBIG und Mitarbeiter (1978) erklären die unterschiedliche Glykosidverteilung durch die verschiedene Textur des rechten und linken Ventrikels. Sie fanden bei der Bestimmung des Extrazellulärvolumens nach der Methode von BUNDSCHU für den rechten Ventrikel 17 % und für den linken Ventrikel nur 7 %.

Wie am Herzen finden sich auch speziell in der Niere besonders hohe Glykosidkonzentrationen. Ergeben sich aus den einzelnen Arbeiten auch erhebliche Schwankungen in den Digoxinkonzentrationen, zeigen sich doch, wie in der vorliegenden Arbeit, charakteristische Verteilungsmuster.

Die höchste Digoxinkonzentration findet sich erwartungsgemäß im wichtigsten Ausscheidungsorgan, den Nieren (DOHERTY und ILSON, 1964; OKITA, 1957). Wie auch schon von MARCUS und Mitarbeitern (1966) beschrieben, folgen Herz und Leber, Pankreas, Lunge, Milz und dann der Skelettmuskel. Die niedrigsten Konzentrationen fanden sich im Gehirn und im Fettgewebe (EWY und Mitarbeiter, 1971; BENTHE, 1975; HAASIS und Mitarbeiter, 1977).

Eine exponierte Stellung nehmen, wie schon REPKE (1958) bei Digitoxin fand, die Nebennieren ein. Inwieweit eine Affinität aufgrund der chemischen Konfiguration zu den Nebennieren besteht (Ruiz-Torres, 1970), bleibt aufgrund der schwierigen Präparation - die Nebennieren betragen

nur 0,02 % des Gesamtkörpergewichtes - und der hohen Glykosidkonzentration in den Nieren als Nachbarorgan offen. Die größte Bedeutung für die Verteilung von Digoxin hat neben dem Herz die Skelettmuskulatur. Obwohl die absolute Konzentration von Digoxin in der Muskulatur mit einem Gewebe/Plasma-Quotienten von 9,7 : 1 wesentlich geringer ist, als am Herzen (HARRISON und Mitarbeiter, 1966; KARJALAINEN und Mitarbeiter, 1974; BENTHE, 1975; HAASIS und Mitarbeiter, 1977), bildet der Skelettmuskel mit einem Anteil am Gesamtkörpergewicht von ca. 43 % für Digoxin den Hauptverteilungsraum.

In der vorliegenden Arbeit beträgt der Skelettmuskel/-Plasma-Quotient 8,7 : 1 und der Anteil der Muskulatur am Gesamtkörpergewicht des Beagle-Hundes 40 %. Die hier im Skelettmuskel gespeicherte Glykosidmenge wird auf 20 - 49 % der insgesamt im Organismus gespeicherten Glykosidmenge geschätzt (HARRISON und Mitarbeiter, 1966; KARJALAINEN und Mitarbeiter, 1974; BENTHE, 1975; IISALO, 1977; HAASIS und Mitarbeiter, 1977). Beim Beagle-Hund wurden für den Skelettmuskel sogar 51 % der im Gesamtorganismus gespeicherten Digoxinmenge errechnet.

#### 5.4 Metabolismus und Elimination von Digoxin

Digoxin wird wie  $\beta$ -Methyldigoxin und Acetyldigoxin größtenteils als unverändertes Glykosid im Urin ausgeschieden (DOHERTY UND PERKINS, 1962; DOHERTY, 1970; DOHERTY UND Mitarbeiter, 1961, 1967, 1969, 1970; RENNEKAMP und Mitarbeiter, 1972; WIRTH und Mitarbeiter, 1971; KRAMER und SCHELER, 1971; CARBONIN und LANE, 1960; KAPADIA, 1964; WEISS, MEYER-ELMEN, RUIZ-TORRES, 1968; WONG und SPRATT, 1964), und zwar nur der Anteil, der nicht an Eiweiß gebunden ist. Der erste und entscheidende

Schritt ist die Kopplung mit Glucuron- und Schwefelsäure. Eine Epimerisierung ist dafür nicht unbedingt die Voraussetzung, da Digoxin und seine Metaboliten bereits am C<sub>12</sub>-Atom mit Glucuronsäure konjugieren können (RIETBROCK und ABSHAGEN, 1973). Digitoxin, das sich von Digoxin lediglich durch das Fehlen der OH-Gruppe in C<sub>12</sub>-Stellung unterscheidet, wird nicht gekoppelt. Die Digoxingenindigitoxoside werden mit etwa derselben Geschwindigkeit, wie Digoxin konjugiert, was zeigt, daß die Anzahl der Zucker für die Kopplungsgeschwindigkeit keine Rolle spielt. Mit der Konjugation von Digoxin geht die Herzwirksamkeit verloren, es entstehen keine herzwirksamen Metabolite. Die Wirkdauer von Digoxin wird so von der Kopplungsgeschwindigkeit und der Ausscheidungsgeschwindigkeit des unveränderten Digoxins in Urin und Faeces bestimmt. Kopplungsprodukte fanden sich in der vorliegenden Arbeit weder im Herzen, noch in der Skelettmuskulatur und im Gehirn. In den übrigen Organen fanden sich polare Metabolite nur zu einem äußerst geringen Prozentsatz. Eine Ausnahme macht die Leber. Hier betrug der Anteil an polaren Metaboliten 12 %.

Dieser Befund entspricht auch den Untersuchungen von ABEL und Mitarbeitern, 1965. Durch porto-cavale Anastomose und Ligatur der Arteria hepatica wurde bei Hunden die Leber vom übrigen Kreislauf ausgeschlossen. Bei solchen Tieren kann man H<sup>3</sup>-Digoxin wesentlich länger im Blut nachweisen, als bei normalen Tieren. Ein Abbau von H<sup>3</sup>-Digoxin kann in vitro nur in Leberschnitten nachgewiesen werden. Nach LAGE und SPRATT (1965) können Schnitte und Homogenate von anderen Organen kein H<sup>3</sup>-Digoxin abbauen. Auch KUSCHINSKY und Mitarbeiter (1968) fanden in isolierten Meerschweinchenvorhöfen keinen meßbaren Digoxinabbau. Neben der Konjugation von Digoxin mit Glucuron- und Schwefelsäure werden in der Leber die Zuckermoleküle stufenweise

abgespalten, während das Steroidgerüst unverändert bleibt. Dementsprechend finden sich im Organismus die Bis- und Monoglykoside sowie die Genine (ABEL und Mitarbeiter, 1965; LAGE und SPRATT, 1965; LUCHI und CONN, 1965; SCHEPHARD und Mitarbeiter, 1954). Diese Abbauprodukte, die nach CHEM (1963) noch eine positiv inotrope Wirkung besitzen, fanden sich nur in der Urinfraktion in einem dünnsschichtchromatographisch kaum erfaßbaren Prozentsatz.

Von entscheidender Bedeutung für die Kumulation von Herzglykosiden ist neben dem Dosierungsintervall die Elimination (RIETBROCK und Mitarbeiter, 1977). Digoxin wird überwiegend renal eliminiert (SMITH und HABER, 1973; MOE und FARAH, 1975; ARONSON und GRAHAME-SMITH, 1976; SIMON, 1972), und die Ausscheidungsgeschwindigkeit wird hauptsächlich durch diese Elimination über die Nieren bestimmt (MARCUS und KAPADIA, 1964; MARCUS und Mitarbeiter, 1966; DOHERTY, PERKINS und MITCHEL, 1961; DOHERTY, 1963; MEYER, 1960; TOWBIN, DOHERTY und FERREL, 1962). Dies zeigen auch die Untersuchungen von DOHERTY (1964) bei niereninsuffizienten Patienten, bzw. nephrektomierten Hunden.

Nach DOHERTY und PERKINS (1962) sowie DOHERTY und Mitarbeiter (1967) werden innerhalb von 7 Tagen 80 % der Aktivität von  $H^3$ -markiertem Digoxin im Urin und 12 % im Stuhl ausgeschieden. 1973 fand MARCUS nach 9 - 14tägiger oraler Gabe von 0,5 mg Digoxin eine über 8 Tage währende kumulative Ausscheidung von 61,5 % im Urin und 32,3 % im Stuhl, dabei waren 90 % der Ausscheidung im Urin unverändertes Digoxin. In der vorliegenden Arbeit beträgt die kumulative Ausscheidung nach 10tägiger parentaler Gabe von 0,0125 mg/kg Körpergewicht über 34 Tage 61,4 % im Urin und 38,5 % im Stuhl. Diese Ergebnisse sind praktisch mit denen von MARCUS (1973) identisch.

Welche Bedeutung in der Digoxinelimination der biliären Ausscheidung und dem entero-hepatischen Kreislauf zukommt, scheint aber noch nicht entgültig geklärt zu sein. Einige Autoren (CARRUTHERS und DUJORNE, 1978; KLOTZ und ANTONIN, 1977; DOHERTY und Mitarbeiter, 1970) fanden für Digoxin nur eine biliäre Ausscheidung zwischen 4 und 16 % der täglichen gegebenen Dosis. ISALO (1977) schloß dagegen aufgrund der Untersuchungen von KOUP und Mitarbeitern (1975) sowie von SUMNER und Mitarbeitern (1976) auf eine nicht renale Ausscheidung zwischen 25 und 28 % des täglich applizierten Digoxin. Ebenso zeigen Untersuchungen von CALDWELL und CLINE (1976), daß 30 % des intravenös gegebenen Digoxin in 24 Stunden in den Magen-Darm-Trakt gelangen. Für die geringe Bedeutung des enterohepatischen Kreislaufs bei der Ausscheidung von Digoxin im Gegensatz zum Digitoxin spricht jedoch, daß gemessen am Plasma-Konzentrationsverlauf, Cholestyramin keine Erhöhung der Digoxin-Elimination bewirkt (KLOTZ und ANTONIN, 1977). DOHERTY und Mitarbeiter schätzen die enterohepatische Rezirkulation von Digoxin auf 6,5 - 8 % (DOHERTY und Mitarbeiter, 1970; DOHERTY und KANE, 1973). Auch andere Autoren (FLACH und Mitarbeiter, 1973; WAGNER, 1974; KOUP und Mitarbeiter, 1975) vermuten für Digoxin einen enterohepatischen Kreislauf, da durch ihn Unregelmäßigkeiten im Blutspiegelverlauf nach oraler und intravenöser Digoxingabe erklärt werden könnten. Daß jedoch Blutspiegelverläufe nicht immer für die Beurteilung von Verteilung und Stoffwechsel eines Pharmakons ausreichen, zeigen die Studien an Beagle-Hunden.

Erst die Untersuchungen der Ausscheidung über einen Zeitraum von vierzehn Tagen nach Absetzen der letzten Glykosidapplikation hinaus machte es möglich, die beiden unterschiedlichen Halbwertzeiten in der Glykosidelimination aufzufinden. Während die mittlere Halbwertzeit der

Digoxinausscheidung in den ersten zehn Tagen nach Absetzen der Glykosidmedikation 32,2 Stunden beträgt, zeigt die Digoxinausscheidung vom 11. Tag an eine mittlere Halbwertszeit von 136 Stunden. Den festgestellten Gewebespiegeln von Digoxin entsprechend, zeigt sich hier die Entleerung aus dem Verteilungsraum Gehirn, das somit nach der Definition von GARRET (1976) einem "deep compartment" entspricht.

#### 5.5 Verteilung von Digoxin im Körper des Menschen und des Versuchstieres

Setzt man voraus, daß Glykosidmessungen im Verteilungsgleichgewicht erfolgen, bildet die Plasma-Eiweißbindung, die durch den Grad der Hydrophilie bestimmte Verteilung im Wasserverteilungsraum und die Aufnahme in die Gewebe die bestimmenden Größen für das Verteilungsvolumen. Neben der Bindung an den Rezeptor im Gewebe, vermutet man eine nicht-spezifische Aufnahme (LÜLLMANN und VAN ZWIETEN, 1969; DUTTA und MARKS, 1972; ERDMANN und SCHONER, 1974). Als bestimmende Größe für das Verteilungsvolumen wurde jedoch die spezifische Bindung von ARONSON und GRAHAME-SMITH (1977) herausgestellt. Sie fanden eine deutliche Beziehung zwischen der Größe des Verteilungsvolumens und der absoluten Menge an ATPase im Gewebe und deren Empfindlichkeit auf Digoxin. Für diese Beziehung sprechen auch die Befunde von MALCOM und COLTART (1977). Das Verteilungsvolumen ist der Quotient aus Gesamtdosis im Organismus und Konzentration im Serumwasser bei Zugrundelegung eines Ein-Kompartiment-Modells. Pharmakokinetisch betrachtet bestehen jedoch der menschliche und tierische Körper aus einem System miteinander verknüpfter Kompartimente. Nach Resorption eines Wirkstoffes verteilt sich

dieser in bestimmten Bezirken des Körpers mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten und in unterschiedlichem Ausmaß. Diesen Gegebenheiten trägt das Mehrkompartiment-Modell mit einer Zusammensetzung des Verteilungsvolumens aus mehreren Kompartimenten mit unterschiedlicher Kapazität und Zugänglichkeit Rechnung. Verteilungsvolumen und Kompartimente sind jedoch fiktive abstrakte Größen, die keinerlei Korrelat zu anatomisch realen Räumen haben müssen. Die Pharmakokinetik charakterisiert ihre Kompartimente durch ihr Volumen und die Geschwindigkeit, mit der sie einen Wirkstoff aufnehmen und abgeben können. Nach Absetzen eines Wirkstoffes wird die Elimination durch die Eliminationskonstante  $k_e$  ausgedrückt. Sie setzt sich aus der Summe einzelner Wirkstoffmengen aus verschiedenen Kompartimenten zusammen.

Die Untersuchungen der Digoxinspiegel in den Geweben des Beagle-Hundes legen nahe, daß die meisten Gewebe dem rasch austauschenden zentralen Kompartiment angehören. Dagegen scheint das Gehirn für Digoxin ein peripheres Kompartiment zu bilden, das nach der Definition von GARRETT (1976) langsamer aufgefüllt und auch wieder langsamer entleert wird. Durch seine geringe Größe - beim Beagle-Hund hat es z. B. nur einen Anteil von 1 % am Gesamtkörpergewicht - kommt dem Gehirn bei der Gesamtglykosidelimination keine Bedeutung zu und eine Beeinflussung des Plasmaspiegels liegt unterhalb der methodischen Nachweisgrenze. Bedingt durch die höhere  $H^3$ -Konzentration in Urin und Faeces nach mehrmaliger Glykosidapplikation, läßt sich jedoch die Elimination bis in die zweite Phase zehn Tage nach Absetzen der  $H^3$ -Digoxinapplikation verfolgen.

Aus der Eliminationskonstanten und dem Dosierungsintervall läßt sich der Kumulationsfaktor für Digoxin berech-

... BROCK und Mitarbeiter, 1977). Eine Kumulation tritt immer dann auf, wenn pro Zeiteinheit mehr Substanz zugeführt wird, als durch Abbau und/oder Ausscheidung aus dem Organismus verschwindet. Das Ausmaß bei gegebener Dosis hängt von der Eliminationskonstanten und dem Dosierungsintervall ab. Je kleiner die Eliminationskonstante, um so ausgeprägter ist die Kumulation und um so länger dauert der Kumulationsvorgang. Vergleicht man den errechneten Kumulationsfaktor mit dem experimentell gewonnenen, so zeigt sich mit Ausnahme des Gehirns eine gute Übereinstimmung. Der experimentell gewonnene Faktor beträgt für Digoxin 2,6 und der berechnete 2,5. Diese Werte stimmen auch mit dem für den Menschen berechneten Kumulationsfaktor für Digoxin überein. Lediglich für das Gehirn besteht in mehreren Arealen eine erhebliche Diskrepanz. Der experimentelle Kumulationsfaktor liegt oft zwei- bis dreimal höher, als der berechnete. Hierbei sind methodische Ungenauigkeiten bei der schwierigen Präparation der kleinen Hirnareale und den relativ wenigen Meßwerten nicht auszuschließen. Außerdem läßt der Versuchsaufbau keine Aussage über die Art der Digoxinbindung im Gehirn zu, da hier nur die globale Glykosidkonzentration im Gehirn bestimmt wurde. Für die ausgeprägte Kumulation von Digoxin im Zentralnervensystem könnte einerseits eine stärkere Bindung oder höhere Affinität an die ( $\text{Na}^+$  und  $\text{K}^+$ ) ATPase des Gehirns oder andererseits eine unspezifische Bindung an die einzelnen Hirnstrukturen verantwortlich sein. Hirnareale mit größerem Anteil am Gesamthirn, wie das Telencephalon, zeigen jedoch wieder eine gute Übereinstimmung von experimentellem und berechnetem Kumulationsfaktor.

Untersuchungen von BRODIE und Mitarbeitern (1960) sowie OLDENDORF (1974) weisen auf die besondere Struktur der Blut-Hirn-Schranke mit den von einer Lipidschicht umgebe-

nen Kapillaren hin, die für relativ polare Substanzen ein schwer passierbares Hindernis darstellt. Hierin dürfte wohl der Grund für die verzögerte Glykosidanreicherung und -elimination im Gehirn zu sehen sein.

#### 5.6 Glykosidkumulation und ihre klinische Bedeutung

Obwohl das Zentralnervensystem nur ein relativ kleines "tiefes" Kompartiment darstellt, kommt ihm eine wichtige klinische Bedeutung zu, da hier der Ort toxischer Wirkungen sein kann. Klinisch werden die Digitalisnebenwirkungen in kardiale und extrakardiale Nebenwirkungen unterteilt. Die extrakardialen Nebenwirkungen unterteilt man wiederum in gastrointestinale und zentralnervös bedingte Symptome (LENDLE und MARKER, 1961; SCHÖLMERICH und Mitarbeiter, 1964; HAASIS und LARBIG, 1975; BODEM und Mitarbeiter, 1977; DOERING und KÖNIG, 1977; RIETBROCK, und KUHLMANN, 1977; SCHÜREN und RIETBROCK, 1977). Zu den letzteren zählen Kopfschmerzen, Schlaflosigkeit, Unruhe, Verwirrtheit, Depression, Psychose, Müdigkeit, Schwindel und Sehstörungen. Als gastrointestinale Nebenwirkungen werden Durchfälle, abdominelle Schmerzen, Appetitlosigkeit, Übelkeit und Erbrechen eingestuft. Wie fließend die Übergänge sind, zeigt sich schon daran, daß die letzten drei Symptome selten der Ausdruck einer echten gastrointestinalen Digitalisunverträglichkeit sind. Nach DOERING und KÖNIG (1977) werden sie wahrscheinlich vorwiegend über eine Reizung der Chemorezeptoren in der Medulla oblongata hervorgerufen. BORISON und WANG (1953) postulieren eine spezielle chemorezeptorische "Triggerzone" außerhalb der Medulla oblongata, die durch Pharmaka erregt wird, und die das Brechzentrum nur reflektorisch beeinflusst.

Für den Kliniker wird es jedoch schwierig, die Spezifität dieser extrakardialen Symptome zu bewerten. Gerade bei älteren multimorbiden Patienten mit vielfältiger Begleitmedikation treten unabhängig vom Digitalisierungsgrad intoxikationsähnliche Reaktionen in großem Umfang auf (BELLER und Mitarbeiter, 1971; DOERING, 1977 und 1978). Wie schon betont, treten Symptome, wie Müdigkeit, Appetitlosigkeit, Übelkeit und Erbrechen sowohl bei unzureichender Digitalisierung, als auch bei Überdosierung auf. Ebenso finden sich diese Symptome auch bei Patienten mit erhöhten Serum-Kreatininwerten (DOERING und Mitarbeiter, 1977). Bei den zentralnervösen Manifestationen, wie Kopfschmerzen, Unruhe, Schlaflosigkeit, Depression, Verwirrtheit, Psychosen und Delirien ist häufig nicht auszuschließen, daß es sich zum Teil auch um Folgewirkungen der digitalisbedingten Oedemausschwemmung, Ionenverschiebung oder Änderung der Hämodynamik handelt.

Da diese Symptome zudem in der Mehrzahl bei älteren Patienten auftreten, muß auch eine Cerebralsklerose als prädisponierender Faktor in Betracht gezogen werden (SCHÖLMERICH 1968; GRABENSEE und RISLER, 1976).

Sehstörungen und Änderung der Farbwahrnehmung gehören zu den seltener diagnostizierten, jedoch eher als pathognostisch einzustufenden Symptomen (SCHLIACK und Mitarbeiter, 1980; BELZ und SCHMIDT-VOIGT, 1971; RIETBROCK und ALKEN, 1980). Auch bei gesicherter Digitalisintoxikation werden diese Symptome seltener beschrieben (BELLER und Mitarbeiter, 1971; HAASIS und LARBIG, 1975; SMITH, 1975), was sicherlich oft auf fehlende diagnostische Maßnahmen bzw. Einrichtungen zurückzuführen ist. So konnte durch RIETBROCK und ALKEN (1980) mittels des Farnsworth's Munsell 100 Hue-Tests ein direkter Zusammenhang zwischen der Digoxinkonzentration im Serum und diskreter Änderung

der spektralen Farbempfindlichkeit nachgewiesen werden. Aufgrund der Untersuchungen am Beagle-Hund zeigt sich, daß das Zentralnervensystem für Digoxin ein peripheres, tiefes Kompartiment darstellt. Setzt man voraus, daß die Kinetik im Gewebehomogenat parallel zur Kinetik in der Biophase verläuft, läge hierin die Erklärung dafür, daß die zentralen Intoxikationssymptome häufig keiner bestimmten Glykosidkonzentration im Plasma zuzuordnen sind und länger persistieren, als die kardial bedingten Glykosidwirkungen (KUHLMANN, 1978).

Auch die kardial bedingten-Herzglykosidwirkungen bereiten Schwierigkeiten in der Zuordnung hinsichtlich ihrer Genese, als auch ihrer Spezifität. So existieren zahlreiche Hinweise auf eine Beteiligung zentraler vegetativer Zentren an der therapeutischen und toxischen Wirkung der Herzglykoside (BORISON und WANG, 1953; HALEY und WEINBERG, 1955; VARMA und Mitarbeiter, 1962; ROBERTS und Mitarbeiter, 1976). Die durch Glykoside bedingte Bradykardie wird sowohl durch sympathische, als auch parasympathische Innervationen am Herzen hervorgerufen und kann durch Denervierung, als auch durch blockierende Substanzen verhindert werden (CHAIN und Mitarbeiter, 1967; TEN EICK und HOFFMANN, 1969; WILLERSON und SMITH, 1974; GILLIS und Mitarbeiter, 1975). Die vagalen Entladungen senken die Frequenz im Sinusknoten und verzögern die AV-Überleitung. Herzglykoside verändern beide Parameter (MC LAIN, 1969; GILLIS und Mitarbeiter, 1972; PACE und GILLIS, 1976; PACE und MARTIN, 1978). Durch die Messung des Potentials der Vagusfasern konnte gezeigt werden, daß die Glykosidmedikation zu einem Anstieg der vagalen Aktivität führt (MC LAIN, 1969; GILLIS und Mitarbeiter, 1972; PACE, 1975). Die Bedeutung der durch Digitalis gesteigerten Vagusaktivität auf die Senkung der Ventrikelfrequenz und der therapeutischen Wirkung bei

Vorhofflattern (FARAH und LOOMIS, 1950; MOE und FARAH, 1970) wird dadurch belegt, daß nach Herztransplantation keine Beeinflussung durch Digoxin möglich war (LEACHMAN und Mitarbeiter, 1971).

Die parasympathische Wirkung der Herzglykoside auf die Vorhöfe führt neben der Herabsetzung der Refraktärzeit zu einer Zunahme der Leitungsgeschwindigkeit. Darüberhinaus kommt es zu einer Erhöhung der Reizschwelle für sekundäre Erregungszentren (RECICK, 1964; GILLIS und Mitarbeiter, 1975; SCHÜREN und RIETBROCK, 1977).

Übereinstimmung besteht in der Ansicht, daß die Herzglykoside mit ihrer parasympathomimetischen Wirkung verantwortlich sind für den antiarrhythmischen Effekt bei Vorhofflimmern und Vorhofflattern, bei paroxysmalen ektopen Vorhoftachykardien bzw. supraventrikulären Tachykardien sowie für die Senkung der Sinusfrequenz.

Kontroverse Ansichten bestehen dagegen bei der Beurteilung der Herzglykosidwirkung auf das sympathische Nervensystem (GILLIS und Mitarbeiter, 1975). Wird durch niedrige Digitalisdosierung aufgrund der Aktivierung der Barorezeptoren eine Zurückdrängung sympathischer Effekte hervorgerufen, so führen höhere Dosen zu einer Steigerung der Sympathikusaktivität (GILLIS und Mitarbeiter, 1972; STARK und Mitarbeiter, 1972). Für einen zentralen Angriffspunkt von Herzglykosiden im Hirnstamm, sprechen die Befunde von GILLIS (1969), der bei Katzen trotz Entfernung des Mittelhirns nach Quabaingabe eine Sympathikusaktivierung erzielen konnte. Bei manifester Herzinsuffizienz liegt meistens eine reduzierte Vagusfunktion vor (ECKBERG und Mitarbeiter, 1971), die nur unwesentlich auf eine Glykosidmedikation anspricht. Andererseits könnte bei schwerer coronarer Herzerkrankung eine Sympa-

thikustimulierung durch Herzglykoside erfolgen. Dies könnte die Ursache für die häufigen tachykarden ventrikulären Herzrhythmusstörungen schwer Herzkranke bei Digitalisüberdosierung sein, während kreislaufgesunde Patienten bei Digitalisüberdosierung eher eine Blockierung der AV-Leitung zeigen (KUHLMANN, 1978).

Gegen eine alleinige zentrale Sympathikusstimulierung durch Herzglykoside spricht aber die Tatsache, daß durch höhere Digitalisgaben auch nach Blockade des zentralen Sympathikus ventrikuläre Arrhythmien auslösbar sind. Einige Autoren erklären diesen Sachverhalt damit, daß neben der Stimulation des zentralen Sympathikus durch Herzglykoside eine Steigerung des Sympathotonus direkt in der Peripherie möglich sei. Für diese Annahme sprechen die Untersuchungen von TEN EICK und HOFFMANN (1969), die nach Glykosidmedikation eine Erregungssteigerung der peripheren autonomen Nerven feststellten.

Obwohl jede Herzrhythmusstörung digitalisbedingt sein kann (SMITH und HABER, 1970; BELLER und Mitarbeiter, 1971; CHUNG, 1972; HAASIS und LARBIG, 1975; DOERING und Mitarbeiter, 1977; KOCHSIEK und Mitarbeiter, 1977), gibt es keine ausgesprochen digitalisspezifische Herzrhythmusstörung. Als besonders "intoxikationspezifisch" gelten bei der Digitalismedikation polytope ventrikuläre Extrasystolen, Bigeminie und Trigeminie AV-Dissoziation, AV-Rhythmen oder AV-Tachykardien und paroxysmale Vorhofftachykardien mit AV-Block. Andererseits können alle diese Rhythmusstörungen unabhängig von der Herzglykosidmedikation auch bei degenerativen, entzündlichen oder hypoxämischen Myokarderkrankungen auftreten (RISLER, GRABENSEE, GROSSE-BROCKHOFF, 1975).

Obwohl, wie dargelegt, noch kontroverse Meinungen über die Digitaliswirkungen und Nebenwirkungen bestehen, stimmen alle Autoren darin überein, daß es keine spezielle Alternative für die Digitalistherapie der Herzinsuffizienz gibt.

Während die Häufigkeit der Digoxin-Intoxikation bei vorstationären und stationären Patienten in älteren Studien, wie schon eingangs erwähnt, bis zu 20 % beträgt (BELLER und Mitarbeiter, 1971; CHARAZ und Mitarbeiter, 1974; LICHEY, SCHRÖDER, RIETBROCK, 1977), zeigen neuere Untersuchungen einen deutlichen Rückgang der Intoxikationsrate (FLASCH und HEINZ, 1979). Mehrere Ursachen führten zu dieser Entwicklung. Der Wissenszuwachs um die Herzglykosidnebenwirkungen und die seit ca. 1974 bestehende Möglichkeit der radioimmunologischen Bestimmung der Serum-Glykosidkonzentration, haben sich als Entscheidungshilfe im Hinblick auf eine Gewichtung der klinischen Symptomatik bewährt. Dies führte zu einer Rücknahme der täglichen Erhaltungsdosis aller Herzglykoside. Eingehende pharmakologische, pharmakodynamische und klinische Untersuchungen haben das Digitoxin in jüngster Zeit erneut an Aktualität gewinnen lassen (KOCHSIEK, RIETBROCK, 1981). Dabei hat sich die Resorptionsquote von ca. 100 bestätigt, der Wirkungseintritt ist jedoch wesentlich rascher als früher vermutet. Der entscheidende Unterschied zu den Lanata-Glykosiden ist die fehlende Kumulation bei Niereninsuffizienz und das bessere therapeutische Angehen einer Digitoxinintoxikation. Unbestreitbar ist die fehlende Kumulation bei Niereninsuffizienz und damit der Wegfall einer Dosiskorrektur eine Erleichterung in der praktischen Therapie gerade für den niedergelassenen Arzt, von dem ca. 96 bis 97 % der Digitalisverordnungen stammen (RIETBROCK und ALKEN, 1980).

Die klinischen Erfahrungen mit Serumspiegelbestimmungen haben jedoch bei den Lanata-Glykosiden gezeigt, daß durch Dosiskorrektur anhand des Serumkreatinins nach Hess (1976) unter Einbeziehung der nach COCKROFF und GAULT (1976) entwickelten Kreatininclearenzberechnung ebenfalls die toxische Kumulation vermieden werden kann.

$$C_{er} = \frac{(140 - \text{Alter}) \times \text{Gewicht (kg)}}{72 \times S_{er} (\text{mg}/100 \text{ ml})}$$

| $C_{er}$<br>(ml/min) | $S_{er}$<br>(mg/100ml) | Digoxin-<br>Erhaltungsdosis |
|----------------------|------------------------|-----------------------------|
| 50                   | 1,3                    | normal                      |
| 50-25                | 1,3-2,5                | 2/3-1/2                     |
| 25- 5                | 2,5-10,0               | 1/2-1/3                     |
| 5                    | 10,0                   | 1/3                         |

Andererseits darf auch die Digitoxindosierung bei Niereninsuffizienz nicht starr gehandhabt werden. Bei hochgradiger Niereninsuffizienz und Dialyse-Patienten kommt es zu einem Absinken des Digitoxinspiegels, so daß eine Dosiserhöhung notwendig werden kann, da sonst die Gefahr einer Unterdosierung besteht. Außerdem ist bei der Kombination einer Niereninsuffizienz mit einer Leberinsuffizienz eine Digitoxindosisreduktion erforderlich, da in diesem Fall mit einer erheblich verlängerten Halbwertszeit gerechnet werden muß (VÖHRINGER, 1981).

Als entscheidend für die Effektivität und Sicherheit der Digitalistherapie gilt letztendlich immer noch, daß nicht die Wahl des Glykosids, sondern die Dosierung unter Berücksichtigung klinisch-pharmakologischer Kenntnisse (LUKAS, 1973; PIERACH und BAUER, 1978) und die sorgfältige ärztliche Kontrolle des Glykosideffektes ausschlaggebend ist.

## 6. ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Arbeit untersucht die Verteilung von tritiummarkiertem Digoxin in den Organen und Hirnarealen des Beagle-Hundes nach einmaliger und nach täglicher intravenöser Applikation über 10 Tage. Anschließend werden die Organkonzentrationen von Digoxin bis 144 Stunden nach letzter Gabe bestimmt. Die renale und fäkale Ausscheidung von tritiummarkiertem Digoxin wird an 2 Beagle-Hunden während zehntägiger Gabe und bis 24 Tage nach Absetzen des Glykosids untersucht. Folgende Ergebnisse wurden erzielt:

Bei täglicher intravenöser Gabe von 0,0125 mg/kg Körpergewicht tritiummarkiertem Digoxins ist nach etwa 7 Tagen ein im therapeutischen Normbereich liegendes steady state erreicht.

Nach einmaliger intravenöser Gabe von  $H^3$ -Digoxin findet man die höchste Konzentration von Digoxin in den Nieren, darauf folgen mit etwa gleichen Konzentrationen die Nebennieren und das Herz. Ebenso unterdurchschnittliche Konzentrationen von  $H^3$ -Digoxin finden sich im Fettgewebe und Gehirn. Die Konzentration im Skelettmuskel beträgt das dreifache der Gehirnkonzentration.

Nach zehnmaliger intravenöser Applikation von  $H^3$ -Digoxin findet man die höchste Digoxinkonzentration in den Nieren, darauf folgen die Nebennieren und erst an 3. Stelle das Herz. Eine unterdurchschnittliche Konzentration von  $H^3$ -Digoxin findet sich im Fettgewebe. Die Konzentration im Gehirn beträgt jedoch das anderthalbfache der Skelettmuskelkonzentration.

Nach zehnmaliger  $H^3$ -Digoxingabe findet im Vergleich zur

einmaligen Gabe eine Digoxinkumulation im Gehirn mit dem Faktor 11,2 statt, in allen anderen Geweben beträgt der durchschnittliche Kumulationsfaktor 2,6, im Herzen 2,36. Beim Gewebe-Plasma-Quotienten beträgt der mittlere Kumulationsfaktor des Gehirns das 3,7fache der andern Organe des Hundes.

Die Glykosidelimination erfolgt mit stark unterschiedlichen Halbwertzeiten. Im Plasma findet sich eine Halbwertzeit von 28,2 Stunden, im Herzen von 26,4 Stunden. Die durchschnittliche Halbwertzeit aller Organe mit Ausnahme des Gehirns beträgt  $33,0 \pm 9$  h; die Halbwertzeit der Glykosidelimination im Gehirn beträgt dagegen  $73,3 \pm 15$  Stunden.

62 % der applizierten  $H^3$ -Digoxin-Dosis werden renal ausgeschieden. Während der täglichen Applikation über 10 Tage werden 83,5 % der verabreichten Dosis ausgeschieden. Nach Absetzen der  $H^3$ -Digoxingabe verläuft die Ausscheidung in zwei Phasen. In der ersten Phase vom 10. bis zum 20. Tag beträgt die Halbwertzeit der Ausscheidung von Digoxin 32,2 Stunden. Bis zu diesem Zeitpunkt sind 99,36 % der gesamten applizierten Digoxindosis ausgeschieden. Der Rest wird in einer zweiten Phase mit einer Halbwertzeit von 136 Stunden ausgeschieden. Insgesamt werden in 34 Tagen 99,8 % der applizierten Dosis ausgeschieden.

In der Äthanolextraktion der einzelnen Organe konnte nur das unveränderte Glykosid Digoxin nachgewiesen werden. Polare Metabolite waren nur im Plasma, Leber, Niere sowie im Dünn- und Dickdarm zu finden. In Urin und Faeces beträgt der Anteil polarer Metabolite in der ersten Phase der Ausscheidung konstant 29 % bzw. 11 %. In der zweiten Phase steigt der Anteil an polaren Metaboliten im Urin bis auf 55 %, während er im Kot auf 4 % sinkt.

Wie in den Organen, so können auch im chloroformlöslichen Anteil vom Kot keine zuckerärmeren Glykoside identifiziert werden. Ebenso bildet im chloroformunlöslichen Anteil die Ausgangssubstanz Digoxin den Hauptkonjugationspartner. Zuckerärmere Glykoside können nur zu einem geringen Prozentsatz in der Urinfraktion entdeckt werden.

7. LITERATURVERZEICHNIS

1. ABEL, R. M., R. J. LUCHI, G. W. PESKIN, H. L. CONN, L. D. MILLER:  
J. Pharmacol. exp. Ther. 150, 143 (1965).
2. AGREN, G., PONTEN, J., RONQUIST, G., WESTERMARK, B.:  
Demonstration of an ATPase at the cell surface of intact normal and neoplastic human cells in culture. J. Cell. Physiol. 78, 171 (1971).
3. ANDERSEN, A. C., GOLDMAN, M.:  
Groth and development. In: The beagle as an experimental dog, p. 43, Ed. Andersen, A. C., Iowa State University Press Ames (1970).
4. ARONSON, J. K., GRAHAME-SMITH, D. G.:  
Altered distribution of digoxin in renal failure - a cause of digoxin toxicity? Br. J. clin. Pharmacol., 3, 1045 (1976).
5. ARONSON, J. K., GRAHAME-SMITH, D. G.:  
Monitoring digoxin therapy: II. Determinants of the apparent volume of distribution. Br. J. clin. Pharmacol., 4, 223 (1977).
6. AUGSBERGER, A.:  
Quantitatives zur Therapie mit Herzglykosiden  
I. Mitteilung: Die Variabilität von Glykosidbedarf und -Toleranz. Med. Welt 47, 1471 (1951).
7. AUGSBERGER, A.:  
Quantitatives zur Therapie mit Herzglykosiden.  
II. Mitteilung: Kumulation und Abklingen der Wirkung. Lin. Wschr. 32, 945 (1954).

8. BARLOW, J. J., KELLIE, A. E.:  
A quantitative method for the chromatographic separation of 17-oxo-steroid sulfates from 17-oxo-steroid glucuronides: with observation on the behaviour of conjugated corticosteroids on the same system. *Biochem. J.* 71, 86 (1959).
9. BAZZANO, G., BAZZANO, G. S.:  
Digitalisintoxication. Treatment with a new steroidbinding resin. *J. A. M. A.* 220, 828 (1972).
10. BELLER, G. A., SMITH, T. W., ABELMANN, W. H., HABER, E., HOOD, W. B.:  
Digitalis intoxication. A prospective study with serum level sorrelations. *New Engl. J. Med.* 284, (18) 989 (1971).
11. BELLER, G. A., SMITH, T. W., HOOD, W. B., Jr.:  
Altered distribution of tritiated digoxin in the infarcted canine left ventricle. *Circulation* 46, 572 (1972).
12. BELZ, G. G., SCHMIDT-VOIGT, J.:  
Entopische Farberscheinungen unter Digitalis-Therapie. *Fortschr. Med.* 89, 93 (1971).
13. BENTHE, H. F.:  
Organverteilung verschiedener Herzglykoside. In: *Digitalistherapie.* (Hrsg.: H. Jahrmärker). Springer, New York (1975), p. 19.
14. BINNION, P. F., MORGAN, L. M., STEVENSON, H. M.:  
Plasma and myocardial digoxin concentrations in patients on oral therapy. *Brit. Heart J.*, 31, 636 (1969).

15. BINNION, P. F., MORGAN, L. M., FLETCHER, E.:  
New ways with digoxin. *Lancet* 1, 678 (1970).
16. BLOOM, P. W., NEUF, W. B.:  
Relationship of the excretion of tritiated digoxin  
to renal function. *Amer J. med. Sci.* 251, 43 (1966).
17. BODEM, G., GILFRICH, H. J., AULEPP, H., OCHS,  
H., DENGLER, H. J.:  
Klinische und pharmakokinetische Untersuchungen  
zur Digitalisintoxikation. *Klin. Wschr.* 55, 13  
(1977).
18. BODEM, G., DENGLER, H. J.:  
Cardiac Glycosides, Part I + II. (Hrsg.: G. Bodem  
und H. J. Dengler) Springer-Verlag Berlin-Heidel-  
berg New York (1978).
19. BODENHORN, H. L., WILKS, G. L.:  
Physiology and pharmacology of vomiting. *Pharmacol.*  
*Rev.* 5, 193 (1953).
20. BREZNICK, F. W.:  
Application of canine plasma kinetics of digoxin  
and digitoxin to therapeutic digitalization in  
the dog. *Am. J. Vet. Res.* 34, 993 (1973).
21. BRISSE, B., MÜLLER, K. M., BENDER, F., HARDER  
F.:  
Digoxinspiegel in verschiedenen Abschnitten des  
menschlichen Myokards. *Verb. Dtsch. Ges. Inn.*  
*Med.* 83, (1977).

22. BROCK, A.:  
Binding of digoxin to human serum proteins. Influence of pH on the binding of digoxin to human albumin. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 34, 260 (1974).
23. BROCK, A.:  
Binding of digitoxin to human serum proteins. Influence of pH on the binding of digitoxin to human albumin. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 36, 13 (1975).
24. BRODIE, B. B., KURZ, H., SCHANKER, L. S.:  
The importance of dissociation constant and lipid solubility in influencing the passage of drugs into the cerebrospinal fluid. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 130, 20 (1960).
25. CALDWELL, J. H., CLINE, Ch.:  
Biliary excretion of digoxin in man. *Clin. Pharmacol. Ther.* 19, 410 (1976).
26. CARBONIN, P. U., ZECCHI, P., BELLOCCI, F., RUFFA, S., LOPERFIDO, F.:  
Pharmakokinetik von Methyl-<sup>3</sup>H-Digoxin nach oraler und intravenöser Gabe beim normalen Menschen. XXXII Congr. Soc. Ital. Cardiol., Taormina, 30.5.-2.6.71 *Atti. Soc. ital. Cardiol.* 16, 721 (1971).
27. CARROL, P. R., GELBART, A., O'ROURKE, M. F., SHORTUS, J.:  
Digoxin concentrations in the serum and myocardium of digitalised patients. *Aust. NZ J Med.* 3, 400 (1973).

28. CARRUTHERS, S. G., DUJORNE, C. A.:  
Digoxin therapy during T-tube biliary drainage  
in man. J. Amer. Med. Ass. 240, 2756 (1978).
29. CASTELLANOS Jr. A., GHAFOUR, A. A., SOFFER, A.:  
Digitalis-induced arrhythmias. Recognition and  
therapy. Cardiovasc. Clin. I/3, 108, (1969).
30. CHAI, C. Y., WANG, H. H., HOFFMAN, B. F., WANG,  
S. C.:  
Mechanisms of bradycardia induced by digitalis  
substances. Am. J. Physiol. 212, 26 (1976).
31. CHAMBERLAIN, D. A., WHITE, R. J., HOWARD, M. R.,  
SMITH, T. W.:  
Plasma digoxin concentration in patients with  
atrial fibrillation. Brit. med. J. 111, 429 (1970).
32. CHAMBERLAIN, D. A.:  
The ratio between myocardial and plasma levels  
of digoxin, p. 262, in: STOPSTEN, O. (Ed.): Sympo-  
sium on digitalis, Gyldendal Norsk Forlag, S.  
262, Oslo (1973).
33. CHAYAZ, A., BAKANI, L., FABRE, J.:  
Digoxinémie et digitalisation. Schweiz. med. Wschr.  
104, 65 (1974).
34. CHEM, K. Y.:  
in: New Aspects of Cardiac Glycosides Hrsg. von  
W. Wilbrandt, Vol. 3, S. 27, Proc. Int.  
Pharmacol. Meeting (New York 1963).
35. CHUNG, D. K.:  
Digitalis intoxication. Postgrad. med. J. 48,  
163 (1972).

36. CHURCH, G. MARRIOTT, H. J. L.:  
Digitalis Delirium. A report on three cases. Circulation 20, 549 (1959).
37. CITRIN, D., STEVENSON, I. H., O'MALLEY, K.:  
Massive digoxin overdose Observations on hyperkalaemia and plasma digoxin levels. Scot. Med. J. 17, 275 (1972).
38. COCKCROFT, D. W., GAULT, M. H.:  
Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. Nephron 16, 31-41 (1976).
39. COLTART, J., HOWARD, M., CHARMBERLAIN, D.:  
Myocardial and skeletal muscle concentrations of digoxin in patients on longterm therapy. Brit. med. J. II, 318 (1972).
40. COLTART, J.:  
Therapeutic myocardial digoxin concentrations. Amer. Heart J. 85, 571 (1973).
41. COLTART, J., GÜLLNER, H. G., BILLINGHAM, M., GOLDMAN, R. H., STINSON, E. B., KALMAN, S. M., HARRISON, D. C.:  
Physiological distribution of digoxin in human heart. Br. Heart J. 4, 733 (1974).
42. DENGLER, H. J., BODEM, G., WIRTH, K.:  
Pharmakokinetische Untersuchungen mit  $H^3$ -Digoxin und  $H^3$ -Lanatosid beim Menschen. Arzneimittel-Forsch. 23, 64 (1973).

43. DETTLI, L.:  
Pharmakokinetische Grundlagen für die optimale Dosierung bei repetierter Applikation von Arzneimitteln, p. 59. In: Klinische Arzneimittelprüfung. Eds.: Eickstedt, K. W., von Gross, F., Gustav Fischer Verlage Stuttgart (1975).
44. DEUTSCHER, R. N., HARRISON, D. C., GOLDMAN, R. H.:  
The relation between myocardial  $H^3$ -digoxin concentration and its hemodynamic effects. Amer. J. Cardiol. 29, 47 (1972).
45. DIETMANN, K., HRSTKA, E., KOCH, K., SCHAUHANN, W.:  
 $\beta$ -Methyl-Digoxin. VIII. Relation of cerebral side-effects in cats to concentrations in the plasma and in the brain. Arch. Pharmacol. 302, 87 (1978).
46. DOERING, W., KÖNIG, E., STURM, W.:  
Digitalisintoxikation. Wertigkeit klinischer und elektrokardiographischer Befunde im Vergleich zur Digoxinkonzentration im Serum. Z. Kardiol., (1970).
47. DOERING, W., KÖNIG, E., Sturm, W.:  
Digitalisintoxikation: Wertigkeit klinischer und elektrokardiographischer Befunde im Vergleich zur Digoxinkonzentration im Serum. Teil 1 und 2, Z. Kardiol. 66, 121 (1977).
48. DOERING, W., KÖNIG, E.:  
Digitalisintoxikation. Dtsch. med. Wschr. 102, 579 (1977).

49. DOERING, W., KÖNIG, E.:  
Anstieg der Digoxinkonzentration im Serum unter  
Chinidinmedikation. Med. Klin. 73, 1085 (1978).
50. DOHERTY, J. E., PERKINS, W. H., MITCHELL, G. K.:  
Tritiated digoxin studies in human subjects. Arch.  
int. Med. 108, 531 (1961).
51. DOHERTY, J. E., PERKINS, W. H.:  
Studies with tritiated digoxin in human subjects  
after intravenous administration. Amer. Heart  
J. 63, 528 (1962).
52. DOHERTY, J. E., PERKINS, W. H., WILSON, M. C.:  
Studies with tritiated digoxin in renal failure.  
Am. J. Med. 37, 536 (1964).
53. DOHERTY, J. E., PERKINS, W. H.:  
Tissue concentration and turnover of tritiated  
digoxin in dogs. Amer. J. Cardiol. 17, 47 (1966).
54. DOHERTY, J. E., PERKINS, W. H.:  
The distribution and concentration of tritiated  
digoxin in human tissues. Ann. intern. Med. 66,  
116 (1967).
55. DOHERTY, J. E.:  
The clinical pharmacology of digitalis glycosides.  
A. Review. Amer. J. Med. Sci 255, 382 (1968).
56. DOHERTY, J. E., FLANIGAN, W. J., PATTERSON, R.  
M., DALRYMPLE, G. V.:  
The excretion of tritiated digoxin in normal human  
volunteers before and after unilateral nephrectomy.  
Circulation 40, 555 (1969).

57. DOHERTY, J. E.:  
The Pharmacokinetics of tritiated Digoxin. Pharmacological and clinical significance of Pharmacokinetics. Symposium Schloß Reinhartshausen 1969, p. 95, Stuttgart-New York: Schattauer 1970.
58. DOHERTY, J. E., FLANIGAN, W. J., MURPHY, M. L., BULLOCH, R. T., DALRYMPLE, G. L., BEARD, O. W., PERKINS, W. H.:  
Tritiated digoxin. XIV Enterohepatic circulation, absorption and excretion studies in human volunteers. *Circulation* 42, 867 (1970).
59. DOHERTY, J. E., HALL, W. H.:  
Tritiated digoxin. XV. Serum protein binding in human subjects. *Amer. J. Cardiol.* 28, 326 (1971).
60. DOHERTY, J. E., KALE, J. J.:  
Clinical pharmacology and therapeutic use of digitalis glycosides. *Drugs* 6, 182 (1973).
61. DOMENECH, R. J., HOFFMANN, J. I. E., NOBLE, M. I. M., SAUNDERS, K. B., HENSON, J. R., SUBIJANTO, S.:  
Total and regional coronary blood flow measured bei radioactive microspheres in conscious and anesthetized dogs. *Circulat. Res.* 25, 581 (1969).
62. DOST, F. H.:  
Grundlagen der Pharmakokinetik. Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1968).
63. DUTTA, S., MARKS, B. H.:  
Factors that regulate ouabain- $H^3$  accumulation by the isolated guinea-pig heart. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 170, 318 (1969).

64. DUTTA, S., MARKS, B. H.:  
Species and ionic influences on the accumulation  
of digitalis glycosides by isolated perfused hearts.  
Brit. J. Pharmacol. 46, 401 (1972).
65. ECKBERG, D. L., DRABINSKY, M., BRAUNWALD, E.:  
Defective cardiac parasympathetic control in pa-  
tients with heart disease. N. Engl. J. Med. 285,  
877 (1971).
66. ERDMANN, E., SCHÖNER, W.:  
Die Affinität verschieden strukturierter Herzgly-  
koside sowie DPH und Ro 2-985 zum Herzglykosidre-  
zeptor. Verh. Dtsch. Ges. Kreislaufforsch. 30,  
309 (1974).
67. EVERED, D. C.:  
The binding of digoxin by the serum proteins.  
Europ. J. Pharmacol. 18, 236 (1972).
68. EWY, G. A., KAPADIA, G. G., YAO, L., LULLIN, M.,  
MARCUS, F. T.:  
Digoxin metabolism in the elderly. Circulation  
34, 449 (1969).
69. EWY, G. A., GROVES, B. M., BALL, M. F., NIMMO,  
L., JACKSON, B., MARCUS, F.:  
Digoxin metabolism in obesity. Circulation 44,  
810 (1971).
70. FALCH, D., TEIEN, A., BJERKELUND, C. J.:  
Comparative study of the absorption, plasma levels,  
and urinary excretion of the "new" and the "old"  
Lanoxin. Br. Med. J. 1, 695 (1973).

71. FALCH, D., TEIEN, A.:  
The influence of kidney function on the plasma level and urinary excretion of digoxin. In: Symposium on Digitalis (ed. Storstein, O.), pp. 183 Oslo, Norway: Gyldendal Norsk (1973).
72. FARAH, A.:  
On the combination of some cardioactive glycosides with serum proteins. J. Pharmacol. exp. Ther. 83, 143 (1944).
73. FARAH, A., LOOMIS, T. A.:  
The action of cardiac glycosides on experimental atrial flutter. Circulation 2, 742 (1950).
74. FAWAZ, G., FARAH, A.:  
A study of the digitoxin binding power of serum and other soluble tissue proteins of the rabbit. J. Pharmacol. exp. Therap. 29, 193 (1944).
75. FISCH, Cn.:  
Digitalis intoxication. J. Amer. med. Ass. 216, 1770-1773 (1971).
76. FLASCH, H., HEINZ, N.:  
Konzentration von Herzglykosiden im Myokard und im Gehirn. Arzneim.-Forsch. 26, 1213 (1976).
77. FLASCH, C. I. u. HEINZ, N.:  
Multizentrische Studie zur Therapie mit Digoxin-Tabletten hoher biologischer Verfügbarkeit. Arzneim.-Forsch./Drug Res. 29, (II), 11, 1737 (1979).

78. FORTUIN, N. J., KAIHARA, S., BECKER, L. C., PITT, B.:  
Regional myocardial blood flow in the dog studied with radioactive microspheres. *Cardiovasc. Res.* 5, 331 (1971).
79. GARRETT, E. R.:  
Theoretische Pharmakokinetik. In: *Klinische Pharmakologie und Pharmakotherapie*, p. 27, Eds.: Kuemmerle, H. P., Garret, E. R., Spitzzy, K. H., Urban & Schwarzenberg Verlag, München/Berlin/Wien (1976).
80. GIBALDI, M., PERRIER, D.:  
Pharmacokinetics. In: *Drugs and the pharmaceutical sciences*, vol. 1p. 105. Ed.: Swarbrick J., Marcel Dekker, New York (1975).
81. GILBERT, R., CADDY, R. P.:  
Digitalis intoxication following conversion to sinus rhythm. *Circulation* 32, 58 (1965).
82. GILLIS, R. A.:  
Cardiac sympathetic nerve activity. Changes induced by ouabain and propranolol. *Science*, 166, 508 (1969).
83. GILLIS, R. A., RAINES, A., SCHWARTZ, A. L., LEVITT, B., STANDAERT, F. G.:  
Neuroexcitatory effects of digitalis and their role in the development of cardiac arrhythmias. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 183, 154 (1972).
84. GILLIS, R. A., PEARLE, D. L., LEVITT, B.:  
Digitalis: a neuroexcitatory drug. *Circulation*, 52, 739 (1975).

85. GILFRICH, H. J., SCHÖLMERICH, P.:  
Digitalisintoxikation. Dtsch. med. Wschr. 100,  
831 (1975).
86. GLADTKE, E., HATTINGBERG, v. H. M.:  
Pharmakokinetik Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-  
New York (1973).
87. GOLDSMITH, C., KAPADIA, G. G., NUMINO, L.:  
Correlation of digitalis intoxication with myocar-  
dial concentration of tritiated digoxin in hypo-  
kaliemic and nomokaliemic dogs. (Abstr.) Circula-  
tion, 40 III-92 (1969).
88. GONZALES, L. F., LAYNE, E. C.:  
Studies on tritiumlabeled digoxin: tissue, blood  
and urine determination. J. clin. Invest. 39,  
1578-1583 (1960).
89. GREENBLATT, D. J., DUHME, D. W., KOCH-WESER, J.,  
SMITH, T. W.:  
Comparison of one- and six-day urinary digoxin  
excretion in single-dose bioavailability studies.  
Clin. Pharmacol. Ther. 16, 813 (1974 c).
90. GRUBER, J. W., LUCHI, R. J., TURNBULL, J. S.:  
Cardiac distribution of <sup>3</sup>H-digoxin and its altera-  
tion by reserpine. Circulation 35, Suppl. 2, 127  
(1967).
91. GRABENSEE, B., RISLER, T.:  
Frühzeichen und Therapie der Digitalisintoxikation.  
Therapiewoche 26, 4812 (1976).

92. GÜLLNER, H. G., STINSON, E. B., HARRISON, D. C., KALMAN, S. M.:  
Correlation of serum concentrations with heart concentrations of digoxin in human subjects. *Circulation*, 50, 635 (1974).
93. HAASIS, R., LARBIG, D.:  
Serumglykosidkonzentration und Digitalisintoxikation. *Dtsch. med. Wschr.* 100, 1768 (1975).
94. HAASIS, R., LARBIG, D.:  
Vergleichende Untersuchungen der Serum-Glykosidkonzentrationen bei Glykosidintoxikationen mit extrakardialen Nebenwirkungen nach Einnahme von Beta-Methyl-digoxin, Beta-Acetyldigoxin und Digoxin. *Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med.* 82, 1702 (1976).
95. HAASIS, R., LARBIG, D., STUNKAT, R., BADER, H., SEBOLDT, H.:  
Radioimmunologische Bestimmung der Glykosidkonzentration im menschlichen Gewebe. *Klin. Wschr.* 55, 23 (1977).
96. HALEY, T. J., WEINBERG, S. J.:  
Comparison of Straphanthin-K and tryptamine strophanthin after intravenous injection in unanaesthetized dogs. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 89, 345 (1955).
97. HARRISON, C. E. Jr., BRANDENBURG, R. O., ONGLEY, P. A., ORVIS, A. L., OWEN, C. A., Jr.:  
The distribution and excretion of tritiated substances in experimental animals following the administration of digoxin-<sup>3</sup>H. *J. Lab. clin. Med.*, 64, 764 (1966).

98. HARTEL, G., KYLLONEN, K., MERCKALLIO, E., OJALA, K., MANNINEN, V., REISSEL, P.:  
Human serum and myocardium digoxin. Clin. Pharmacol. Ther. 19, 150 (1976).
99. HENDERSON, G. N., STRATTON, J.:  
Bailliere's veterinary handbook, Bailliere Tindall and Cox, London (1963).
100. HERRMANN, I., REPKE, K.:  
Konjugation von Cardenolidgeninen mit Schwefelsäure oder Clucuronsäure. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmac. 248, 370 (1964).
101. HESS, T.:  
Herinsuffizienz und Digitalisbehandlung. Schweiz. Rundschau Med. (Praxis) 65 (1976), 6-14.
102. HOBSON, J. D., ZETNER, A.:  
Digoxin serum half-life following suicidal digoxin poisoning. Jama, 223, 147 (1973).
103. HOPKINS, B. E., TAYLOR, R. R.:  
Digoxin distribution in the dog's left ventricle in the presence of coronary artery ligation. J. Molec. Cell. Cardiol. 5, 197 (1973).
104. HUFFMANN, D. H., AZARNOFF, D. L.:  
Absorption of orally given digoxin preparations. J. Amer. med. Ass., 222, 957 (1972).
105. IISALO, E.:  
Clinical pharmacokinetics of digoxin. Clin. Pharmacokinetics 2, 1 (1977).

106. JUSKO, W. J., WEINTRAUB, M.:  
Myocardial distribution of digoxin and renal function. Clin. Pharmacol. Therap., 16, 449 (1975).
107. JAHRMÄRKER, H.:  
Digitalistherapie. (Beiträge zur Pharmakologie und Klinik). Ed.: H. Jahrmärker. Springer-Verlag, Berlin-Heidelber-New York (1975).
108. KAISER, F.:  
Die papierchromatographische Trennung von Herzgiftglykosiden. Chem. Ber. 88, 556 (1955).
109. KARJALAINEN, J., OJALA, K., REISSEL, P.:  
Tissue concentrations of digoxin in autopsy material. Acta Pharmacol. Toxicol., 34, 385 (1974).
110. KELLER, F., BLUMENTHAL, H. P., MAERTIN, K., RIETBROCK, N.:  
Overall pharmacokinetics during prolonged treatment of healthy volunteers with digoxin and  $\beta$ -Methyl-digoxin. Europ. J. clin. Pharmacol., 12, 387 (1977).
111. KLOTZ, U., ANTONIN, K. H.:  
Biliary excretion studies with digoxin in man. Int. J. Clin. Pharmacol., 15, 332 (1977).
112. KOCHSIEK, K., LARBIG, D., HAASIS, R.:  
Klinik und Therapie der Digitalisintoxikation. Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 83, 99 (1977).
113. KOCHSIEK, K., RIETBROCK, N.:  
Digitalistherapie bei Herzinsuffizienz, Urban u. Schwarzenberg (1981).

114. KOUP, J. R., JUSKO, W. J., ELLWOOD, C. M., KOHLI, R. K.:  
Digoxin pharmacokinetics: Role of renal failure in dosage regimen design. Clin. Pharmac. Ther., 18, 9 (1975 b).
115. KRAMER, W. G., LEWIS, R. P., COBB, T. C., FORESTER, W. F., Jr., VISCONTI, J. A., WANKE, L. A., BOXENBAUM, H. G., REUNING, R. H.:  
Pharmacokinetics of digoxin: Comparison of a two- and a three-compartment model in man. J. Pharmacokinet. Biopharm., 2, 299 (1974).
116. KREBS, R.:  
Klinische Pharmakologie der Herzglykoside. (Beiträge zur Kardiologie, Bd. 14; Hrsg.: K.-A. Zölch). Perimed-Verlagsgesellschaft, Erlangen, (1980).
117. KRIEGLSTEIN, J., KUSCHINSKY, G.:  
Quantitative Bestimmung der Eiweißbindung von Pharmaka durch Gelfiltration. Arzneim.-Forsch. 18, 287 (1968).
118. KRIEGLSTEIN, J.:  
Zur Plasmaproteinbindung von Arzneimitteln. Klin. Wschr. 47, 1125 (1969).
119. KUHLMANN, J., KÖTTER, V., LEITNER, E. von, ARBEITER, G., SCHRÖDER, R., RIETBROCK, N.:  
Glykosidkonzentrationen im Herzmuskel und anderen Geweben des Hundes nach experimentellem Myokardinfarkt. Verh. Dtsch. Ges. Kreislaufforsch. 40, 296 (1974).

120. KUHLMANN, J., KÖTTER, V., LEITNER, E. von, ARBEITER, G., SCHRÖDER, R., RIETBROCK, N.:  
Concentration of digoxin, methyl digoxin, digitoxin and ouabain in the myocardium the dog following coronary occlusion. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 287, (1975).
121. KUHLMANN, J., REICHE, J., BRUNS, J.:  
Distribution of digoxin, B-methyl digoxin and ouabain after single and multiple doses in dogs. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. Suppl. to Vol. 293, R 29 (1976).
122. KUHLMANN, J.:  
Verteilung von Herzglykosiden im Organismus, klinisch-pharmakologische Grundlagen der Therapie. Habilitationsschrift Berlin 1978.
123. KUHLMANN, J., ERDMANN, E., RIETBROCK, N.:  
Distribution of cardiac glykosides in heart and brain of dogs and their affinity to the ( $\text{Na}^+ + \text{K}^+$ )ATPase. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 307, 65 (1979).
124. KUSCHINSKY, G., LAHRTZ, H., LÜLLMANN, H., van ZWIETEN, P. A.:  
Accumulation and release of  $^3\text{H}$ -digoxin by guinea-pig heart muscle. Brit. J. Pharmacol. Chemother., 30, 317 (1967).
125. KUSCHINSKY, G., LÜLLMANN, H., van ZWIETEN, P. A.:  
A comparison of the accumulation and release of  $\text{H}^3$ -ouabain and  $\text{H}^3$ -digitoxin by guinea-pig heart muscle. Br. J. Pharmacol. Chemother. 32, 598 (1968).

126. KUSCHINSKY, G.:  
Über die Bindungseigenschaften von Plasmaproteinen für Herzglykoside. Naunyn-Schmiedebeg's Arch. exp. Path. Pharmacol. 262, 388 (1969).
127. LAGE, G. L., SPRATT, J. L.:  
J. Pharmacol. exp. Ther. 149, 248 (1965).
128. LARDIG, D., KOCHSIEK, K., SCHRADER, Chr.:  
Klinische Aspekte der radioimmunochemischen Bestimmung der Serum-Digoxinkonzentration. Dtsch. med. Wschr. 97, 139 (1972).
129. LARBIG, D., HAASIS, R., KOCHSIEK, K.:  
Die Glykosidkonzentration und ihre klinische Bedeutung (forum cardiologicum 15) In Studienreihe Boehringer Mannheim. Boehringer-Mannheim (1978).
130. LAWS, E. R., O'CONNOR, J. S.:  
ATPase in human brain tumors. J. Neurosurg. 33, 167 (1970).
131. LEACHMAN, R. D., COKKINOS, D. V. P., CABRERA, R., LEATHERMAN, L. L., ROCHELLE, D. G.:  
Response of the transplanted denervated human heart to cardiovascular drugs. Am. J. Cardiol. 27, 272 (1971).
132. LENDLE, L., MERCKER, H.:  
Extrakardiale Digitalis-Wirkungen. Ergeb. Physiol. 51, 199 (1961).
133. LICHEY, J., SCHRÖDER, R., RIETBROCK, N.:  
Aktuelle Plasma-Digoxinkonzentration von Patienten bei Krankenhausaufnahme. Dtsch. med. Wschr. 102, 1056 (1977).

134. LIPSKI, J. I.:  
Digitalis. In: Donoso, E. (Ed.): Current Cardio-vascular Topics. Vol I. Drugs in Cardiology, part 2 (Thieme: Stuttgart 1975), 42.
135. LLOYD, B. L., TAYLOR, R. R.:  
Augmentation of myocardial digoxin concentration in hemorrhagic shock. *Circulation* 51, 718 (1975).
136. LLOYD, B. L., HOPKINS, B. E., TAYLOR, R. R.:  
Increase in myocardial digoxin content associated with circulatory volume overload in the dog. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 3, 102 (1976).
137. LUCHI, R. J., CONN, H. L.:  
*Progr. cardiovasc. Dis.* 7, 336 (1965).
138. LÜLLMANN, H., van ZWIETEN, P. A.:  
The kinetic behaviour of cardiac glycosides in vivo measured by isotope techniques. *J. Pharm. Pharmacol.* 21, 1 (1969).
139. LÜLLMANN, H., PETERS, T., SEILER, K. U.:  
Über die Verteilung und Biotransformation verschiedener Herzglykoside. *Dtsch. med. Wschr.* 96, 1018 (1971).
140. LUKAS, D. S., DE MARTINO, A. G.:  
Binding of digitoxin and some related cardenolides to human proteins. *J. clin. Invest.* 48, 1041 (1969).
141. MALCOLM, A., COLTART, J.:  
Relation between concentrations of digoxin in the myocardium and in the plasma. *Brit. Heart J.* 39, 935 (1977).

142. MARCUS, F. I., KAPADIA, G. J., KAPADIA, G. G.:  
The metabolism of digoxin in normal subjects.  
J. Pharmac. Exp. Ther. 145, 203 (1964).
143. MARCUS, F. I., PERTERSON, A. S., SCULLY, J., KAPADIA, G. G.:  
The metabolism of tritiated digoxin in renal insufficiency in dogs and man. J. Pharmacol. Exp. Ther. 152, 372 (1966).
144. MARCUS, F. I., PAVLOVICH, J., BURKHALTER, L., CUCCIA, C.:  
The metabolism fate of tritiated digoxin in the dog: A comparison of digitalis administration with and without a 'loading dose'. J. Pharmacol. Exp. Ther. 156, 548 (1967).
145. MARCUS, F. I., PAVLOVICH, J., LILLIN, M., KAPADIA, G.:  
The effect of reserpine on the metabolism of tritiated digoxin in the dog and in man. J. Pharmacol. Exp. Ther. 159, 314 (1968).
146. MARCUS, F. I., KAPADIA, G. G., GOLDSMITH, C.:  
Alteration of the body distribution of tritiated digoxin by acute hyperkalemia in the dog. J. Pharmacol. Exp. Ther. 165, 136 (1969).
147. MARCUS, F. I., NIMMO, L., KAPADIA, G. G., GOLDSMITH, C.:  
The effect of acute hypokalemia on the myocardial concentration and body distribution of tritiated digoxin in the dog. J. Pharmacol. Exp. Ther. 178, 217 (1971).

148. MARCUS, F. I.:  
Metabolism of digoxin in normal man and factors influencing the body distribution. Symposium on Digitalis, Oslo 1973, p. 112, Oslo: Gyldendal Norsk Forlag 1973 a.
149. MARCUS, F. I.:  
The role of the liver in the transformation and excretion of digoxin. Symposium on Digitalis, Oslo 1973, p. 200, Oslo: Gyldendal Norsk Forlag 1973 b.
150. MASON, D. T., ZELLIS, R., LEE, G., HUGHES, J. L., SPANN, J. F. Jr., AMSTERDAM, E. A.:  
Current concepts and treatment of digitalis toxicity. *Am. J. Cardio.* 27, 546 (1971).
151. MCLAIN, P. L.:  
Effects of cardiac glycosides on spontaneous efferent activity in vagus and sympathetic nerves of cats. *Int. J. Neuropharmacol.* 8, 379 (1969).
152. MOE, G. K., FARAH, A. E.:  
Digitalis and allied cardiac glycosides. In: Goodman, L. S., Gilman, A.: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. Eds. MacMillan Co., New York (1970), p. 677.
153. MOE, G. K., FARAH, A. E.:  
Digitalis and allied cardiac glycosides. In: Goodman, L. S., Gilman, A.: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. Eds. MacMillan Publ. Co., Toronto-London (1975), p. 653.

154. MORGAN, L. M., BINNION, B. F.:  
The distribution of  $^3\text{H}$ -digoxin in normal and acutely hyperkalaemic dogs. *Cardiovasc. Res.* 4, 235 (1970).
155. NYBERG, L., ANDERSSON, K.-E., BERTLER, A.:  
Bioavailability of digoxin from tablets. II. Radioimmunoassay and disposition pharmacokinetics of digoxin after intravenous administration. *Acta Pharm. Suec.* 11, 459 (1974).
156. OGILVIE, R. J., RUEDY, J.:  
An educational program in digitalis therapy. *J. Amer. med. Ass.* 222, 50 (1972).
157. OKITA, G. T., TALSA, P. J., CUVRY, H. J.:  
I. *Pharmacol. Exp. Ther.* 113, 376 (1955).
158. OKITA, G. T.:  
Studies with radioactive digitalis. *Amer. Geriatr. Soc.* 5, 163-174 (1957).
159. OKITA, G. T.:  
Species difference in duration of action of cardiac glycosides. *Fed. Proc.* 26, 1125-1130 (1967).
160. OKITA, G. T.:  
Distribution, Disposition and Excretion of Digitalis Glykosides. In: *Digitalis*, p. 13 (Ch. Fisch, B. Surawicz, eds.). New York: Grune & Stratton 1969.
161. ODENDORF, W. H.:  
Drug penetration of the blood-brain barrier. In: *Narcotics and the hypothalamus*, p. 213, Eds.: Zimmermann, E., George, R., Raven Press, New York (1974).

162. PACE, D. G.:  
The neuroexcitatory effects of digitalis in the cat. Ph. D. Thesis, Georgetown University Schools of Medicine and Dentistry (1975).
163. PACE, D. G., GILLIS, R. A.:  
Neuroexcitatory effects of digoxin in the cat. J. Pharmacol. Exp. Therap. 199, 583 (1976).
164. PACE, D. G., MARTIN, P.:  
Interactions between digoxin and brief vagal bursts influencing atrioventricular conduction. J. Pharmacol. Exp. Ther. 205, 657 (1978).
165. PIERACH, C. A., BAUR, H.:  
Schwerpunkt Medizin 1/2 (1978) 82.
166. PRINDLE, K. H., SKELTON, C. L., EPSTEIN, S. E.:  
Influence of extracellular potassium concentration on myocardial uptake and inotropic effect of tritiated digoxin. (Abstr.) Circulation 49 (suppl. III), III-165 (1969).
167. PRINDLE, K. H. Jr., SKELTON, C. L., EPSTEIN, S. E., MARCUS, F. I.:  
Influence of extracellular potassium concentration on myocardial uptake and inotropic effect of tritiated digoxin. Circulat. Res. 28, 337 (1971).
168. RABITZSCH, G.:  
Spezifische Titrierung von Herzglykosiden unter Wilzbach-Bedingungen. Naturwissenschaften 56, 328 (1969).

169. RENNEKAMP, H., RENNEKAMP, Ch., ABSHAGEN, U., V. BERGMANN, K., RIETBROCK, N.:  
Pharmakokinetik behavior of 4'''-Methyldigoxin in man. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmacol. 243, 172 (1972).
170. REPKE, K.:  
Biochemie und Klinik der Digitalis. Internist 7, 418 (1966).
171. RESNICK, N.:  
Digitalis. A double-edged sword. Med. Sci. 4, 31 (1964).
172. REUNING, R. H., SAMS, R. A, NOTARI, R. E.:  
Role of pharmacokinetics in drug dosage adjustment. I. Pharmacologic effect kinetics and apparent volume of distribution of digoxin. J. clin. Pharmacol. 13, 127 (1973).
173. RIETBROCK, N., ABSHAGEN, J.:  
Stoffwechsel und Pharmakokinetik der Lanataglykoside beim Menschen. Dtsch. med. Wschr. 98, 117 (1973).
174. RIETBROCK, N., KUHLMANN, J.:  
Clinical significance of distribution and elimination of cardiac glycosides. Internal symposium on clinical pharmacokinetics. Salzgitter-Ringelheim (1975).
175. RIETBROCK, N., KUHLMANN, J.:  
Pharmakokinetische und klinische Aspekte der Glykosidtherapie bei Herzinsuffizienz. Med. Klin. 72, 435 (1977).

176. RIETBROCK, N., KUHLMANN, J., VÖHRINGER, H. F.,  
SCHÜREN, K. P.:  
Klinische Pharmakologie herzwirksamer Glykoside.  
Herz/Kreisl. 9, 896 (1977).
177. RIETBROCK, N., ALKEN, R. G.:  
Die Therapie der Herzinsuffizienz mit Digitalis.  
Dtsch. med. Wschr. 105, 1622 (1980).
178. RIETBROCK, N., ALKEN, R. G.:  
Digitalistherapie bei Herzinsuffizienz, Urban  
u. Schwarzenberg 1981.
179. RIOS, J. C., DZIOK, C. A., ALI, N. A.:  
Digitalisinduced arrhythmias. Recognition and  
management. Cardiovasc. Clin. II/2, 263 (1970).
180. RISLER, T., GRABENSEE, B., GORSSE-BROCKHOFF, F.:  
Eliminationskinetik und Dosierung von Digoxin  
bei Patienten mit Niereninsuffizienz. Dtsch. med.  
Wschr. 99, 2130 (1974).
181. RISLER, T., GRABENSEE, B., GROSSE-BROCKHOFF, F.:  
EKG-Veränderungen und Digoxin-Serumkonzentration  
bei Digitalisintoxikation. Dtsch. med. Wschr.  
100, 821 (1975).
182. ROBERTS, J., KELLIHER, G. J., LATHERS, C. M.:  
Role of adrenergic influences in digitalis-induced  
ventricular arrhythmias. Life Sci. 18, 665 (1976).
183. ROESCH, A., KOCH, K., SCHAUMANN, W.:  
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 279, 211-226  
(1973).

184. RUIZ-TORRES, A.:  
Kinetik der Herzsteroidoide im Organismus des Menschen und der Versuchstiere. Klinische Wschr. 5, 259 (1970).
185. SCHAUMANN, W.:  
Die Pharmakokinetik von Digitalis-Glykosiden und ihre Bedeutung für die Therapie. Therapiewoche 35, 2894 (1973).
186. SCHAUMANN, W.; KOCH, K.:  
B-Methyl-Digoxin VII. Tissue distribution, positive inotropic and central action in cats in comparison with other digitalis glycosides. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 286, 195 (1974).
187. SCHLIACK, H., FISCHER, G., RUIZ-TORRES, A.:  
Bild einer doppelseitigen retrobulbären Opticusneuritis bei Digitalisüberdosierung. Dtsch. med. Wschr. 92, 973 (1967).
188. SCHÖLMERICH, P., PABST, K., JAHRREIS, O., LANGE, K.:  
Nebenwirkungen der Therapie mit Herzglykosiden. Dtsch. med. Wschr. 89, 12 (1964).
189. SCHÖLMERICH, P.:  
Art und Häufigkeit unerwünschter Nebenwirkungen der Digitalis-Glykoside. In: Herzinsuffizienz, S. 574. Eds. H. Reindell, J. Keul, E. Doll, G. Thieme-verlag (1968).
190. SCHOLTAN, W., SCHLOSSMANN, K., ROSENKRANZ, H.:  
Bestimmung der Eiweißbindung von Digitalispräparaten mittels der Ultrazentrifuge. Arzneimittel Forsch. 16, 109 (1966).

191. SCHÜREN, K. P., RIETBROCK, N.:  
Klinische Aspekte der Digitalisintoxikation. Internist. Prax. 17, 581 (1977).
192. SELDEN, R., NEILL, W. A.:  
Myocardial uptake of ouabain in intact dog and man. J. Pharmacol. Exp. Ther. 193, 951 (1975).
193. SHAPIRO, W., NARAHARA, K., TAUBERT, K.:  
Relationship of plasma digitoxin and digoxin to cardiac response following intravenous digitalization in man. Circulation 42, 1065 (1970).
194. SHEPHEARD, E. E., THORP, R. H., WRIGHT, S. E.:  
The excretory products of Digoxin in the rat. J. Pharmacol. exp. Ther. 112, 133 (1954).
195. SJOERDSMA, A., FISCHER, C. S.:  
Circulation (1951) 4, 100.
196. SMITH, S.:  
J. Chem. Soc. 1, 508 (1930).
197. SMITH, T. W., BUTLER, Jun., V. P., HABER, E.:  
Determination of the therapeutic and toxic serum digoxin concentration by radioimmunoassay. New Engl. J. Med. 281, 1211 (1969).
198. SMITH, T. W., HABER, E.:  
Digoxin intoxication: the relationship of clinical presentation to serum digoxin concentration. J. clin. Invest. 49, 2377 (1970).
199. SMITH, T. W., HABER, E.:  
Digoxin intoxication. J. clin. Invest. 49, 2377 (1970).

200. SMITH, T. W., WILLERSON, J. T.:  
Suicidal and accidental digoxin in gestion. Report  
of five cases with serum digoxin level correlation.  
*Circulation* 44, 29 (1971).
201. SMITH, T. W., HABER, E.:  
Digitalis. *N. Engl. J. Med.* 289, 945, 1010, 1063,  
1125 (1973).
202. SMITH, T. W.:  
Digitalis toxicity. Epidemiology and clinical  
use of serum concentration measurements. *Amer.  
J. Med.* 58, 470 (1975).
203. SOMOGYI, G., KALDOR, A., JANKOVICS, A.:  
Plasma concentrations of cardiac glycosides in  
digitalis intoxication. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*  
4, 158 (1972).
204. STARK, J. J., SANDERS, C. A., POWELL, W. J.:  
Neutrally mediated and direct effects of acetyl-  
strophanthidin on canine skeletal muscle vascular  
resistance. *Circ. Res.* 30, 274 (1972).
205. STEINES, F., VALENTIN, N.:  
Myocardial uptake of digoxin in chronically digita-  
lized dogs. *Br. J. Pharmac.* 58, 553 (1976).
206. STORSTEIN, L.:  
Protein binding of cardiac glycosides in disease  
states. *Clin. Pharmacokinetics* 2, 220 (1977).

207. STROBACH, H., GREEFF, K., HORSTER, F. A., WILD-MEISTER, W.:  
Radioimmunoassay for the determination of the serumdigoxin level after application of digoxin and digoxin derivates in man. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmacol. 274, Suppl. 113 (1972).
208. SUMNER, D. J., RUSSEL, A. J., WHITING, B.:  
Digoxin pharmacokinetics: multicompartmental analysis and its clinical implications. Br. J. Clin. Pharmacol. 3, 221 (1976).
209. TEN EICK, R. E., HOFFMANN, B. F.:  
The effect of digitalis on the excitability of autonomic nerves. J. Pharmacol. Exp. Ther. 169, 95 (1969).
210. TOWBIN, E. J., DOHERTY, J. E., FERREL, C. B.:  
The renal excretion of tritiated digoxin. Clin. Res. 12, 72 (1964).
211. UCHIDA, S., KINOSHITA, Y., KUSAKARI, I., FUSE, M.:  
Studies on the metabolism and distribution of cardiac glycosides. III. Protein binding of digitoxin and its metabolites. Jap. J. Pharmacol. 85, 602 (1965).
212. VARMA, D. R., SHARE, N. N., MELVILLE, K. I.:  
Cardiovascular responses following injection of picrotoxin into the lateral cerebral ventricles of rabbit. Intern. J. Neuropharmacol. 1, 203 (1962).

213. VERNICK, R. SPECTOR, R., SONNENBLICK, E. H., LORENZO, A.:  
Demonstration of significant binding of digoxin by plasma proteins. *Circulation*, 45, (Suppl. II) 46, 31 (1971).
214. VÖHRINGER, H. F.:  
"Digitalis-Therapie bei Herzinsuffizienz" Urban und Schwarzenberg, 57, (1981).
215. WAGNER, J. G.:  
Appraisal of digoxin bioavailability and pharmacokinetics in relation to cardiac therapy. *Am. Heart J.* 88, 133 (1974).
216. WAGNER, J. G.:  
Fundamentals of clinical Pharmacokinetics. the Hamilton Press, Hamilton, Illinois, (1975).
217. WARTBURG, A. V., KALBERER, F., RUTSCHMANN, J.:  
Tritium-labelled cardiac glycosides: Digoxin (12 alpha <sup>3</sup>H). *Biochem. Pharmacol.* 14, 1883-1889 (1965).
218. WEIS, D., MEYER-ELMERN, E., RUIZ-TORRES, A.:  
Untersuchungen über die Ausscheidung von Digoxin durch den Harn beim Menschen, *Verh. dtsch. Ges. Kreisl.-Forsch.* 202-205 (1968).
219. WESSLER, A. M., HARRIS, W. S., SCHOENFELD, C. D.:  
Systolic time intervals in heart failure in man. *Circulation* 37, 149 (1968).
220. WILLERSON, J. T., SMITH, T. W.:  
Massive digoxin ingestion: clinical experience and principles of management. *Clin. Med.* 81, 29 (1974).

221. WILLIAMS, R., FLANIGAN, St., BISSETT, J., DOHERTY, J.:  
Differential uptake of tritiated digoxin in benign and malignant central nervous system neoplasms. Am. J. Med. Sci. 272, 132 (1976).
222. WILSON, C. W. M., BRODIE, B. B.:  
The absence of bloodbrain barrier from certain areas of the central nervous system. J. Pharmacol. Exp. Ther. 133, 332 (1961).
223. WILZBACH, K. E.:  
I. Am. chem. Soc. 79, 1013 (1957).
224. WIRTH, K., BODEM, G., DENGLER, H. J.:  
Kinetik und Stoffwechsel von Digoxin und verwandten Herzglykosiden beim Menschen. Naunyn-Schmoedeberg's Arch. exp. Path. Pharmac. 269, 427 (1971).
225. WITHERING, W.:  
An account of the foxglove and some of its medical uses. S. 184, Swinney, Birmingham (1785).
226. WITHERING, W.:  
An account of the foxglove an of its medical uses, with practical remarks on dropsy and other diseases. In: Wilkins, F. A., T. E. Keys (Ed.): Classics of Cardiology (Dover Publications: New York 1941), 227.
227. WONG, K. C., SPRATT, J. L.:  
Conversion of digoxin to digoxingenin by liver tissue in vitro. Biochem. Pharmacol. 13, 489-495 (1964).

LEBENS LAUF

23.11.1947 geboren in Baalberge, Kr. Bernburg/  
Saale als Sohn des technischen Ange-  
stellten Wolfgang Reiche und seiner  
Ehefrau Gertrud, geb. Günter

1954-1960 Besuch der politechnischen Oberschule  
in Baalberge/Kr. Bernburg

1960-1962 Besuch der Grundschule Altenhagen/Kr.  
Bielefeld

1962-1968 Friedrich-v. Bodelschwingh-Gymnasium in  
Bielefeld

1968 Abitur

01.01.69-31.12.70 Ableistung des Wehrdienstes im Sani-  
tätsbereich.

SS 1971 Aufnahme des Medizinstudiums an der FU  
Berlin

08.11.71 Eheschließung mit Christa Reiche, geb.  
Espenhahn, Übersetzerin

21.02.72 Vorphysikum an der FU Berlin

03.09.73 Physikum an der FU Berlin

Famulaturen: Geburtshilfe und Gynäkolo-  
gie bei Prof. Dr. Lübke in AVK Berlin,  
Innere Medizin bei Prof. Dr. N. Schrö-  
der, Klinikum Steglitz, Pathologie bei  
Prof. Dr. Gross, Klinikum Steglitz

16.02.77 Staatsexamen an der FU Berlin

01.04.77-31.07.77 Medizinal-Assistentenzeit in der  
Inneren Medizin im Klinikum Steglitz  
der FU

01.08.77-30.11.77 Medizinal-Assistentenzeit in der  
Inneren Medizin im Jüdischen Kranken-  
haus zu Berlin

01.12.77-31.03.78 Medizinalassistentenzeit in der Chirur-  
gie im Rittberg-Krankenhaus des DRK in  
Berlin

|               |                                                                                                     |
|---------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 05.03.78      | Geburt des Kindes Vera Christine<br>Reiche                                                          |
| 03.04.78      | Approbation als Arzt                                                                                |
| Seit 01.04.78 | Assistenzarzt in der Inneren Abteilung<br>des Akademischen Lehrkrankenhauses<br>Hameln, Wilhelmstr. |
| 27.09.80      | Geburt der Tochter Elëna Reiche                                                                     |
| 09.09.81      | Geburt der Zwillinge Eva und Ann-Mari<br>Reiche                                                     |

Angestrebt wird der Arzt für Innere  
Medizin

Herrn Prof. Dr. Norbert Rietbrock danke ich für die Überlassung des Themas und für die Förderung und Unterstützung der Arbeit,

Herrn Priv. Doz. Dr. Jochen Kuhlmann, der mich dabei verständnisvoll betreut hat,

Frau Bärbel Dalichow für ihre technische Assistenz, den Mitarbeitern des Instituts für Klinische Pharmakologie für die freundliche Atmosphäre und die nützlichen Hinweise, den Tierpflegern des Bundesgesundheitsamtes und des Klinikum Steglitz für die Betreuung der Tiere.





